Aus der Universitäts-Strahlenklinik Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. R. du Mesnil de Rochemont

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Röntgenstrahlen und Cyclophosphamid bei einmaliger und fraktionierter Anwendung auf die Antikörperbildung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Wolfgang Textor
aus Kassel

Marburg 1968

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Aus der Universitäts-Strahlenklinik Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. R. du Mesnil de Rochemont

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Röntgenstrahlen und Cyclophosphamid bei einmaliger und fraktionierter Anwendung auf die Antikörperbildung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Wolfgang Textor
aus Kassel

Marburg 1968

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 22.2.1968
gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät

Dekan: Professor Dr. med. R. Siegert
Referent: Professor Dr. med. R. du Mesnil de Rochemont
Correferent: Professor Dr. med. F. Hess

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	
	a. Die Bildungsstätte der Antikörper	1
	b. Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Antikörperbildung	7
	c. Historischer Rückblick über die bisher gefundenen Ergebnisse bei fraktionierter Röntgenbestrahlung	11
	cc. Über die Erholungsvorgänge der Haut bei Bestrahlung mit verteilten Dosen	18
	d. Überblick über die bisherigen Ergebnisse der Wirkung des Cyclophosphamids auf die Antikörperbildung	21
II.	Fragestellung der Arbeit	23
III.	Material und Methode	25
IV.	Eigene Untersuchungen	
	A. Der Einfluß unterschiedlich fraktionierter Ganzkörperbestrahlung auf die nachfolgende Antikörperbildung	
	a. Wirkung einer einmalig oder unterschiedlich fraktionierten Gesamtdosis von 300 R auf die nachfolgende Antikörperbildung	28
	b. Wirkung einer einmalig oder unterschiedlich fraktionierten Gesamtdosis von 400 R auf die nachfolgende Antikörperbildung	32
	bb. Histologische Ergebnisse	36
	c. Der Einfluß der Pausendauer einer fraktioniert verabreichten Ganzkörperbestrahlung auf die später anlaufende Antikörperbildung	48

Seite

B. Der Einfluß des fraktioniert oder massiert applizierten Cyclophosphamids auf die Primär- und Sekundärreaktion

a. Die Wirkung des vor der Antigengabe fraktioniert oder massiert verabreichten Cyclophosphamids auf die Antikörperbildung 52

b. Die Induktion einer Antikörpersynthese einen Tag nach einer massiert verabreichten Cyclophosphamid-Dosis 54

c. Der Einfluß des fraktioniert oder massiert gegebenen Cyclophosphamids auf den Booster-Effekt 54

V. Diskussion der Ergebnisse 58

VI. Zusammenfassung der Ergebnisse 64

VII. Zusammenfassung 68

VIII. Literaturverzeichnis 70

I. a Die Bildungsstätte der Antikörper

Wenn ein Antigen mit einem tierischen Organismus in Berührung kommt, wird die Bildung von Antikörpern induziert. Die Immunkörperproduktion ist eine Funktion des lymphoretikulären Gewebes (MC MASTER), wobei Milz und Lymphknoten die Hauptbildungsstätten sind (MC MASTER, MC MASTER und HUDACK, THORBECKE und KEUNING). Auf subkutanen Antigenreiz bilden sich die Antikörper zunächst in den regionalen Lymphknoten, nach einer i.v. Injektion primär in Milz und Knochenmark.

Nach der Antigenstimulation kommt es in der Initialphase zunächst zu einer Präparation des Antigens, die der Aufschlüsselung des hochmolekularen korpuskulären Fremdkörpers in kleinmolekulare effektive Antigenteile dient. Diese Vorbereitung findet als Phagozytose mit einer ingestiven und digestiven Phase vor allem in den Makrophagen des RES statt (EHRICH, ENGELHARDT, WHITE). Die Phagozytose wird von den unspezifischen humoralen Abwehrstoffen, den Bakterizidiefaktoren (Opsonine, Properdin, Alexine, alpha-Lysine), durch Oberflächenveränderungen der antigenen Substanz unterstützt. Das aufgeschlüsselte Antigen bewirkt eine Aktivierung der indifferenzierten lymphoiden Zellen mit nachfolgender Transformation in unreife und reife Plasmazellen.

Die Beantwortung der Frage nach der zellulären Bildungsstätte der Immunkörper wurde von vielen Untersuchern indirekt durch Vergleich der histologischen, zytologischen, serologischen und gewebekulturellen Ergebnisse und direkt durch Markierungsverfahren (fluoreszierende Antikörper durch Einwirkung von Fluoreszeinisozyanat (COONS, LEDUC, CONOLLY), Isotopenmarkierung) versucht. Ein Teil der Untersucher hält die Lymphozyten allein, ein anderer die Plasmazellen allein für fähig, Antikörper zu bilden. Durch die Lokalisation in jugendliche Zellformen (lymphoide Retikulumzellen, junge Plasmazellen) wurden weitere

Zellen als immunologisch kompetent angesprochen.

Weil besonders in lymphozytenreichen Organen Antikörper gefunden wurden, hielt man zunächst die Lymphozyten für die Antikörperbildner. Zu dem gleichen Schluß führte HEKTOEN die Tatsache, daß bei mit Röntgenstrahlen behandelten Tieren eine Verminderung der Antikörperbildung mit einer Verringerung des lymphatischen Gewebes parallel ging. Gegen die Annahme, daß die kleinen Lymphozyten den Ort der Antikörperbildung darstellen, sprechen die experimentellen Ergebnisse von ERSLEV und THORBECKE und KEUNING. Ersterer fand bei immunisierten Kaninchen in Extrakten von zirkulierenden Lymphozyten in keinem Stadium der Sensibilisierung faßbare Mengen von Antikörpern. THORBECKE und KEUNING berichteten 1953 in vergleichenden Untersuchungen über die Potenz von Milzgewebe, Lymphknoten, Knochenmark, Leber und Thymus in Kulturen Antikörper zu bilden. Die Organe stammten von gegen Parathyphus immunisierten Kaninchen. In den Kulturen von Milzgewebe, Lymphknoten und Knochenmark ließ sich eine Antikörperbildung feststellen, während die lymphozytenreiche Thymusrinde und die Leber keine faßbaren Antikörper bildeten.

Die ersten Angaben darüber, daß Plasmazellen möglicherweise die Antikörper bilden, stammen von HUEBSCHMANN (1913); er beschrieb das Auftreten von Plasmazellenanhäufungen in der Milz im Verlauf von Infektionskrankheiten. FAGRAEUS (1947, 1948) entnahm von Kaninchen die Milz, die vorher mit Thyphusantigen vorbehandelt worden war. Von der weißen und roten Milzpulpa wurden Gewebekulturen angelegt. Die in den Kulturen gebildeten Agglutinine lagen an den Tagen am höchsten, an denen die höchste Rate an unreifen Plasmazellen zu beobachten war. Viele andere Untersuchungen berichten über eine gute Relation zwischen der Plasmazellproliferation und

der Antikörperbildung. Die Plasmazellen treten - bei einer Primärreaktion - 1 bis 2 Tage vor dem Erscheinen der Serumagglutinine auf. Neugeborene können keine Antikörper bilden, im histologischen Bild finden sich auch keine Plasmazellen (SCHRIDDE). Menschen, die an einer A-Gamma-Globulinämie leiden, können keine Plasmazellen bilden.

Als direkter Beweis für die Lokalisation der Antikörper in den Plasmazellen sind folgende Versuche anzusehen: REIS, MERTENS und EHRICH erreichten eine Agglutination von Thyphuszellen an der Oberfläche von Lymphoidzellen, die aus gegen Thyphus sensibilisierten Tieren stammten; bei Lymphozyten, Granulozyten und Makrophagen sahen sie keine Agglutination. COONS, LEDUC und CONOLLY erreichten durch Einwirkung von Fluoreszeinisocyanat eine Fluoreszenz der Antikörper tragenden Plasmazellen. Nach der EHRICHschen Theorie der Antikörperbildung wird das Antigen nach der Aufschlüsselung in den Phagozyten zum Organisator der Transformation von lymphoiden Zellen in Plasmazellen, den Lymphozyten soll die Funktion eines Co-Faktors zukommen.

Es kann als gesichert gelten, daß Plasmazellen Immunkörper bilden. In den letzten Jahren wurde die Frage nach der zellulären Bildungsstätte der Antikörper der biologischen Betrachtungsweise folgend mehr von der Funktion her - welche die Form prägt - beantwortet. BURNET (1959) spricht von einer "immunologisch kompetenten Zelle"; er kommt auf Grund seiner seit 1957 durchgeführten immunbiologischen Untersuchungen an der Chorioallantois-Membran des Huhns u.a. zu folgenden Schlüssen (1963): Es ist die Funktion des Antigens, Zellen für die Stimulierung zur Proliferation auszuwählen. Damit bewirkt das Antigen die Bildung von exekutiven Zellnachkommen (Lymphozyten, Plasmazellen und Histiozyten) und von Zellen mit Erinnerungsvermögen ("memory cells"); dies sind Zellen, von

denen Nachkommen von gleicher oder verwandter Spezifität hergeleitet werden können. Die Antikörperproduktion ist Ausdruck von synthetischen Prozessen, die durch Zellgene gesteuert werden.

Wie BURNET stellen viele andere Untersucher neben der Plasmazelle eine lymphoide Rundzelle als immunologisch kompetente Zelle heraus, wobei die Begriffe "kleiner Lymphozyt" (MILLER 1966, MEDAWAR 1963, GOWANS 1963) und "kleine lymphoide Retikulumzelle" (ROHR 1960, STENDER 1963) gebraucht werden. MILLER (1966) hält die nach Größe und Morphologie als kleine Lymphozyten bezeichneten Zellen für eine heterogene Kollektion mit verschiedenem Ursprung, verschiedener Funktion und Lebensspanne. Lediglich langlebige, wiederholt rezirkulierende kleine Lymphozyten aus Lymphknoten und weißer Milzpulpa sollen immunologisch kompetent sein. STENDER (1963) sieht in der lymphoiden "Retikulumzelle" eine pluripotente Stammzelle, aus der sich verschiedene Retikulumzellen und Zellen der lymphozytären Reihe bilden können; von kleinen Lymphozyten ist diese Zelle nicht zu unterscheiden. Die aktivierten lymphoiden Retikulumzellen hat WINTER (1957) im zytologischen Ausstrich "Entwicklungsformen" genannt. Die Bezeichnung unterstreicht die große prospektive Bedeutung dieser Zelle. STENDER (1963) nimmt an, daß die erste Phase der Gewebsreaktion die Aktivierung der lymphoiden Rundzelle ist. Diese Phase ist noch nicht antigenspezifisch, sondern kann auch durch unspezifische Reizkörper (z.B. Kohlesuspension, Aluminiumhydroxyd) stimuliert werden. Die Umbildung der aktivierten lymphoiden Retikulumzelle in eine junge Plasmazelle wird durch den spezifischen Reiz des aufgeschlüsselten Antigens erreicht, ohne ihn bilden sich Lymphozyten (YOFFEY).

An Hand von Lymphknotenzellen von Ratten, die mit zwei Antigenen sensibilisiert worden waren, konnte festgestellt

werden, daß die nicht proliferierende Einzelzelle nur eine der beiden denkbaren Antikörperarten bilden kann (LEDERBERG, WHITE). MEDEWAR (1963) nimmt an, daß das Antigen ein Induktor ist, der der Zelle einen bestimmten Weg der Differenzierung erlaubt; einen Weg, der im Rahmen der genetischen Fähigkeiten der Zelle liegt. Die Überlegung, daß bei ausschließlicher Beteiligung der vielfach vorhandenen Ribonukleinsäure die Antikörperbildung der einzelnen Zelle vielseitiger sein müßte, führt zu der Desoxyribonukleinsäure der Chromosomen, die nur ein- oder zweimal in der Zelle vorkommen (SCHULTZE 1960). LEDERBERG vertrat die Theorie einer genabhängigen Antikörpersynthese. JERNE hatte die Hypothese aufgestellt, daß Antigene durch Auswahl präexistenter Genmuster die Antikörperproduktion induzieren. Die "Klon-Selektionstheorie" BURNETs besagt ebenfalls, daß auf den Antigenreiz eine bestimmte inaktive Vorläuferzelle mit ihrem präexistenten Genmuster zu proliferieren beginnt und so einen Klon bildet.

Neuerdings wird auch ein Zusammenhang zwischen der Thymus und dem Immunsystem angenommen. Bei neugeborenen Nagern bewirkt eine Thymektomie später einen Mangel an kleinen Lymphozyten, einen Ausfall der verzögerten Hypersensibilitätsreaktion, ein Fehlen der Fähigkeit, homologe Transplantate abzustoßen und eine herabgesetzte Fähigkeit, Antikörper gegen einige Antigene zu bilden (MILLER and OSOBA). Auch beim Menschen ist ein Zusammenhang zwischen einem immunologischen Mangelsyndrom und einer Thymusfehlentwicklung bekannt - bei der lymphopenischen Form der Hypogammaglobulinämie. Neben einer kleinen fehlgebildeten Thymus findet man die oben beschriebenen experimentell erzeugten Mängel (MILLER 1966).

Die Antikörperbildung geschieht über eine biologische

Kette, von der die Wirkung der Bakterizidiefaktoren, die Funktion der Makrophagen mit ihrer ingestiven und digestiven Phase, die Aktivierung der lymphoiden Zellen und deren Transformation in Plasmazellen Glieder sind.

I. b Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Antikörperbildung

Jeder schädigende Einfluß auf die Neubildung von Zellen oder ihre Funktionen, die vor allem nach der Inkorporation des Antigens in Gang kommen, kann hemmend auf die Antikörperproduktion wirken.

BENJAMIN und SLUKA (1908) haben als erste den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Antikörperbildung untersucht. Sie fanden eine Abhängigkeit der Wirkung vom Zeitpunkt der Antigengabe. Wurde das Antigen nach erfolgter Bestrahlung verabreicht, so wurde die Antikörperproduktion verhindert oder schwer gehemmt. Eine schon angelaufene Immunkörperbildung wurde durch Strahleneinwirkung kaum beeinträchtigt. Diese Beobachtung wird bestätigt durch die Ergebnisse von TALIAFERRO, DIXON, TALMAGE, MAURER, KOHN, STENDER und SIMIC.

In weiteren Untersuchungen über die Abhängigkeit des Ausmaßes der Schädigung vom Zeitpunkt der Antigengabe fanden sich folgende Gesetzmäßigkeiten (DIXON, TALMAGE, MAURER, TALIAFERRO und TALIAFERRO):

1. Wird das Antigen 12 Stunden bis 21 Tage nach der Strahleneinwirkung gegeben, so kommt es zu einer ausgeprägten Hemmung der Immunkörperbildung.
2. Die Antikörperbildung ist nicht wesentlich vermindert, wenn das Antigen bis zu 6 Stunden nach der Bestrahlung injiziert wird.

DIXON und Mitarb. formulierten aus diesem Verhalten das Bestehen einer kurzen radiosensiblen Initialphase und einer strahlenresistenten Produktionsphase, dabei soll die Radiosensibilität in direkter Abhängigkeit zum Antigen stehen.

STENDER, STRAUCH und WINTER konnten zeigen, daß diese Abhängigkeit nicht besteht; wenn 1 Stunde nach Bestrah-

lung eine zweiprozentige Kohlesuspension subcutan gegeben wurde und das Antigen 48 Stunden später - also zu einem Zeitpunkt, an dem sich der Strahlenschaden voll ausgebildet hatte. Durch Pyrifer, Human- und Rattenseruminjektionen konnte bei gleicher Versuchsanordnung eine gleiche Herabsetzung des Strahlenschadens erzielt werden. Die Hemmung der Antikörperbildung wurde auch dann abgeschwächt, wenn die genannten Substanzen am 8. oder 3. Tag vor der Bestrahlung gegeben werden.

All diesen Substanzen ist gemeinsam, daß sie zu einer Aktivierung des lymphoretikulären Gewebes führen. Die aktivierten Zellen sind weniger strahlenempfindlich, ihre Zahl während der Anwesenheit des Antigens ist mitbestimmend für das Ausmaß der Antikörperbildung und ihre Bildung ist nicht antigenspezifisch (STENDER). Für einen humoralen Faktor, der für die gesteigerte Strahlenresistenz verantwortlich ist, fand sich kein Anhalt (RIECKE).

Die bisherigen Erörterungen bezogen sich auf die Schädigung der zellulären Präparation der Zellen, die zu Plasmazellen werden.
Ionisierende Strahlen hemmen auch die Aufschlüsselung des Antigens (disgestive Phase) in den Makrophagen (DONALDSON), während die Phagozytose der Makropnagen (ingestive Phase) nicht beeinträchtigt ist - wie FITCH und Mitarb. durch Speicherversuche mit radioaktiv markiertem Antigen nachweisen konnten. Durch Vorbehandlung kann die Makrophagenfunktion gesteigert werden.

Eine weitere Abhängigkeit der Strahlenwirkung auf die Antikörperbildung besteht zur Höhe der gewählten Dosis und zur Tierart.
Größere Dosen als Ganzkörperbestrahlung verabreicht, führen zu einer stärkeren Hemmung der Immunkörperbildung als kleinere (TALIAFERRO 1957, STENDER 1958, STENDER, STRAUCH

und WINTER 1961). Beim Vergleich der serologischen Titer fällt bei höheren Dosen eine Verlängerung der Zeit bis zum Auftreten der ersten Titer auf; dieser Zeitraum wurde von TALIAFERRO Induktionsperiode genannt. Titeranstieg und Spitzentiter sind entsprechend verändert.

Kleinere unter Ganzkörperexposition eingestrahlte Dosen können nach geringer Schädigung zu einer Steigerung der Abwehr führen. TALIAFERRO sah ein Anwachsen des Opsoninindex.

Da die $LD_{50/30}$ von Tierart zu Tierart verschieden hoch liegt, ergeben sich naturgemäß im Kurvenverlauf Niveauunterschiede. Die $LD_{50/30}$ liegt z.B. beim Meerschweinchen bei 300 R, bei Ratten bei 600 R und bei Kaninchen bei 800 R.

Die bisherigen Erörterungen bezogen sich auf eine Ganzkörperbestrahlung. Lokale Bestrahlung führt häufig zu einer überschießenden Reparation und Aktivierung des zur Antikörperbildung fähigen Gewebes, das ist besonders deutlich, wenn Milz oder Lymphknoten bestrahlt werden (PAPE und JELLINEK, GRAHAM und Mitarb., STENDER und Mitarb., PAPE und PIRINGER-KUCHINKA).

Aus dem Dargestellten ergeben sich folgende Faktoren, die für eine Beeinflussung der Antikörperbildung durch Röntgenstrahlen von Bedeutung sind:

1. Zeitpunkt der Bestrahlung
2. Höhe der Strahlendosis
3. Tierart
4. Ort der Bestrahlung

Weitere Varianten bei der Beeinflussung der Immunkörperbildung durch ionisierende Strahlen sind die Strahlenqualität und die zeitliche Dosisverteilung (Protrahierung und Fraktionierung).

Da in dieser Arbeit die Wirkung der Fraktionierung einer

Strahlendosis auf die Antikörperbildung untersucht werden soll, wird im folgenden ein Überblick über die Ergebnisse bei fraktionierter Bestrahlung gegeben.

I. c Historischer Überblick über die bisher gefundenen Ergebnisse bei fraktionierter Röntgenbestrahlung

Bei der Strahlentherapie bösartiger Tumoren wird der Organismus lokal und auch allgemein beeinträchtigt. Es galt, die Höhe der Strahlendosis und die räumliche Dosisverteilung so zu gestalten, daß das Tumorgewebe maximal und das gesunde Gewebe möglichst wenig geschädigt wird. Die Dosis wird nach oben in erster Linie durch die Toleranzgrenze der Haut oder des durchstrahlten gesunden Gewebes eingeschränkt. Neben der Ausblendung und Filterung, Mehrfelder- und Bewegungsbestrahlung ist die fraktionierte Bestrahlung eine Möglichkeit, das Verhältnis zwischen Hautbelastung und Tumorschädigung zu verbessern; d.h. die Elektivität der Strahlenwirkung zu steigern.

Unter Fraktionierung oder Dosisverzettelung (SCHWARZ 1924, 1925, 1930) oder Superponierung (MIESCHER 1930) versteht man eine Aufteilung der Gesamtdosis in Teildosen, zwischen denen bestrahlungsfreie Intervalle liegen.

Theoretische Grundlage für die zeitliche Dosisverteilung ist das BUNSEN-ROSCOEsche Gesetz und das SCHWARZSCHILDsche Gesetz. Nach dem BUNSEN-ROSCOEschen Gesetz ist die Größe einer photochemischen Reaktion dem Produkt aus Intensität und Zeit gleich. Ein konstantes Intensitäts-Zeit-Produkt ergibt eine konstante photochemische Wirkung. Dieses Gesetz hat Gültigkeit für die Schwärzung einer photographischen Schicht durch Röntgenstrahlen. Bei der Schwärzung einer photographischen Schicht durch sichtbares Licht kommt es bei kleiner Intensität zu einer Verringerung der Wirkung, d.h. man muß bei kleiner Intensität länger Licht einwirken lassen, um die gleiche Schwärzung zu erzielen. Unter Berücksichtigung einer konstanten Exponente p - dem SCHWARZSCHILDschen Exponenten - die mit der Zeit eingesetzt wird, gelingt es, auch bei geringer Intensität

eine gleiche Wirkung zu erreichen. Das SCHWARZSCHILDsche Gesetz lautet $W = I \times t^p$. Die Konstante ist jedoch nicht für beliebig lange Bestrahlungszeiten anwendbar.

Diese Gesetzmäßigkeit besteht auch dann, wenn mehrere Lichtmengen von gleicher Intensität während einer längeren Zeit auf eine photographische Schicht einwirken (LIECHTI 1929).

KROENIG und FRIEDRICH (1918) und WINTZ (1924) wiesen auf Abweichungen im Sinne des SCHWARZSCHILDschen Gesetzes hin, wenn ein biologisches Objekt mit niedriger Dosisleistung röntgenbestrahlt wird (Protrahierung, "Langzeitbestrahlung" (HOLTHUSEN 1931)).

Durch Versuche mit der Strahlenreaktion der Haut wiesen KROENIG und FRIEDRICH (1918) als erste exakt nach, daß bei Fraktionierung der Dosis eine geringere Wirkung eintritt. Sie zeigten, daß 1/13 einer HED täglich 13 Tage lang verabreicht nur ein schwaches Erythem erzeugt, während sich bei einmaliger Applikation der Gesamtdosis ein starkes Erythem mit Exkoriation ausbildet. KINGERY (1921), SCHWARZ (1924), WINTZ und RUMP (1926), STENSTRÖM und MATTIK (1926), FINZI und HARMER (1928), MIESCHER (1930) u.a. kamen experimentell zu dem gleichen Ergebnis.

Analog zum SCHWARZSCHILDschen Exponenten nannte HOLTHUSEN (1926) den Faktor, um den die Dosis bei längeren Bestrahlungen und gleicher biologischer Wirkung vergrößert werden muß, "Zeitfaktor". Zur Unterscheidung dieses Zeitfaktors bei Protrahierung und Fraktionierung schlug WACHSMANN (1943) vor, sinngemäß von Protrahierungsfaktor bzw. Fraktionierungsfaktor zu sprechen. Der Fraktionierungsfaktor ist ein Faktor, mit dem man eine fraktioniert verabreichte Gesamtdosis multiplizieren muß, um die gleiche biologische Wirkung zu erzielen, die man bei einzeitiger Bestrahlung erreicht. Der Fraktionierungsfaktor ist größer als 1, sobald bei Fraktionierung eine Minderung der Wir-

kung eintritt; er ist kleiner als 1, wenn eine Verstärkung der Wirkung eintritt.

Auf Grund der geringeren biologischen Wirkung, die KROENIG und FRIEDRICH bei fraktionierter Bestrahlung an der Haut gefunden hatten, schlug WINTZ (1935) für die Tumortherapie die einzeitige "Massiv"- oder "Expeditivbestrahlung" vor, um hier Erholungsvorgänge zu vermeiden.
Die Einführung der Fraktionierung in die Tumortherapie knüpft an die Namen FERROUX, REGAUD und COUTARD. FERROUX und REGAUD hatten 1927 bei fraktionierter Bestrahlung des Samenepithels von Widdern, Ratten und Kaninchen eine größere biologische Wirkung beobachtet als bei einmaliger Bestrahlung. Bei einmaliger Bestrahlung war ohne schwere Hautläsionen eine dauernde Sterilisation nicht zu erreichen. Bei fünf- bis sechsfacher Fraktionierung der Gesamtdosis und täglichem Intervall kam es bei geringer Hautschädigung zu einer dauernden Sterilisation. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde beim Tumor ein ähnliches Verhalten angenommen. Als protrahiert-fraktionierte Bestrahlungsweise wurden diese Erkenntnisse von COUTARD in der Tumortherapie von Larynx- und Hypopharynx-Carcinomen mit Erfolg angewandt.

Die unterschiedliche Wirkung der Bestrahlung mit verteilten Dosen ist Ursache für viele theoretische Erörterungen und experimentelle Untersuchungen gewesen:

Schon vor den klassischen Versuchen von KROENIG und FRIEDRICH und FERROUX und REGAUD war fraktioniert bestrahlt worden. Die Gründe dafür waren Schwierigkeiten der Dosimetrie und eine geringe Leistungsfähigkeit der Röntgenapparate.

FREUND gab 1896 zur Epilation eines Naevus pilosus "wiederholt kleine Dosen bis zum gewünschten Effekt". JOHNSON und MERRIL (1901) und PHAHLER (1904) bestrahlten in 50 bzw. 90 Einzelsitzungen, weil sie so die Hautreaktion besser kontrollieren konnten und weil für die Patienten die

einzelne Bestrahlungszeit kürzer war.

Nach Bekanntwerden eines Zeitfaktors im Sinne des SCHWARZSCHILDschen Exponenten versuchte man die geringere biologische Wirkung bei Fraktionierung mit den Begriffen "unvollständige Kumulation" und "Erholung" (HOLTHUSEN 1926) zu deuten. HOLTHUSEN erklärte die geringere Wirkung damit, daß für die direkte Zellschädigung das Defizit irgendeiner bei der Bestrahlung zersetzten Substanz eine gewisse Höhe erreicht haben müsse, während für die indirekten Strahlenfolgen die Konzentration irgendwelcher unter der Bestrahlung sich bildender Stoffe maßgebend sei. Die Erholung wird als ein reparativer Vorgang bezeichnet, der nach der Bestrahlung dem Bestrahlungsschaden entgegenwirkt. Auf Grund der Versuche von JÜNGLING (1924), der die Strahlenwirkung in keiner Weise abgeschwächt fand, wenn er während der Bestrahlungszeit gekeimte Bohnen auf Eis legte, sah HOLTHUSEN einen Zusammenhang zwischen unvollständiger Kumulation der Bestrahlungseffekte und dem Wachstum.

Zur Klärung der unterschiedlichen Phänomene wurden Begriffe aus der Immunologie zur Hilfe genommen:
SCHINZ und SLOTOPOLSKY (1926) sprachen bei stärkerer Wirkung von Röntgenallergie, AMOROSO und LORENZ (1959) bei schwächerer von zellulärer Resistenzsteigerung.

Andere Autoren sehen auf Grund ihrer experimentellen Ergebnisse einen Zusammenhang zwischen Mitoserate und biologischer Wirkung.
REICHHOLD (1921) bemerkte bei histologischen Beobachtungen am bestrahlten Lippen-Carcinom eine verstärkte Schädigung, wenn die Strahleneinwirkung im Mitose-Maximum stattgefunden hatte. Er schlug vor, die Volldosis in Intervallen zu geben.

HOLTHUSEN (1926) nannte als Ausgangspunkt für die theo-

retische Begründung der fraktionierten Bestrahlung den Gedanken, nach und nach alle Zellen im Stadium der Mitose zu treffen, um eine gesteigerte Wirkung zu erhalten.

GLOCKER, LANGENDORFF und REUSS (1931) sahen bei Bohnen eine Änderung der Schädigungsziffer mit der Zahl der zur Zeit der zweiten Bestrahlung vorhandenen Mitosen; die Wirkung war geringer, wenn die zweite Bestrahlung zur Zeit des Minimums der Mitosezahl erfolgte, sie war fast wie bei der Volldosis, wenn die zweite Bestrahlung in der Zeit des Mitose-Maximums stattfand.

LANGENDORFF (1949) unterscheidet einen "physikalischen Zeitfaktor" und einen "biologischen Zeitfaktor". Eine physikalische Zeitfaktorwirkung nimmt LANGENDORFF in der Möglichkeit der Rekombination von gebildeten Ionenpaaren bei hoher Dosisleistung an. Ein biologischer Zeitfaktor sei durch die nach der Einzelbestrahlung ablaufenden zellulären Erholungsvorgänge einzusetzen.
Ein Erholungseffekt kann sich erstens biochemisch als Rekombination von freien H-Atomen und OH-Radikalen zu H_2O und zweitens morphologisch als Rekombination von Chromosomenbruchstücken bemerkbar machen (KEPP 1953).

ELLIS (1963) erklärt die gesteigerte Radiosensibilität der Tumorzellen während einer fraktionierten Bestrahlung damit, daß in die durch den initialen Tumorzerfall entstandenen Lücken gefäßreiches Granulationsgewebe einwächst und damit die zuerst der Sauerstoffzufuhr fern liegenden malignen Zellen gut mit Sauerstoff versorgt und deshalb in einer späteren Phase empfindlicher macht.
Um die reparativen Vorgänge des Bindegewebes nicht zu behindern, empfahl SAMBROOK (1962, 1963) die tägliche Dosis nicht zu hoch zu legen bzw. Erholungspausen einzuschalten.

ELLIS verabreichte primär 1.000 rad und nach 15 Tagen Pause 4.000 rad zehnfach bei täglichem Intervall fraktioniert. Bei diesem Modus wurde ein besseres Verhältnis von normalen Zellen zu Tumorzellen erreicht als bei täglicher Fraktionierung von insgesamt 5.000 rad.

FOWLER und Mitarb. (1963) kamen in Übereinstimmung mit LAJTHA, OLIVER und ELLIS (1960) auf Grund von Versuchen an der Schweinehaut zu dem Ergebnis, daß für die geringere Wirkung bei Fraktionierung weniger die Gewebsreparatur oder Repopulation von Wichtigkeit sei, sondern daß jede kleine Einzeldosis eine disproportional kleinere Wirkung habe.

Nach dem BERGONIÉ-TRIBONDEAUschen Gesetz (1906) ist eine Zelle gegen ionisierende Strahlen desto sensibler, je näher sie dem Embryonalzustand ist, je öfter sie sich teilt und je weniger differenziert sie ist.
WACHSMANN (1943) ordnete die Zellen nach ihrer unterschiedlichen Reaktionsweise in ein System, er unterteilt die bestrahlten Zellen nach ihrer Aktivität in drei Gruppen: "normal", "vital" und "latent".
Unter "normalen Zellen" versteht WACHSMANN die Zellen der Haut; der Fraktionierungsfaktor ist hier größer als 1, was gleichbedeutend mit einer geringeren Wirkung bei Fraktionierung ist.
"Vitale Zellen" sind alle Zellen, die durch "schnell ablaufende Lebensäußerungen" gekennzeichnet sind; sie bauen das Mausergewebe auf. Bei vitalem Gewebe ist der Fraktionierungsfaktor kleiner als 1, was einer Steigerung der Strahlenwirkung entspricht. Einige Mausergewebe und deren Untersucher seien genannt: Kaninchenhoden (SCHINZ und SLOTOPOLSKY 1926), Widerhoden (FERROUX und REGAUD 1927), Knochenmark (BAUER 1940), Hühnerembryonen (LEA 1941) und Ascariseier (OEHLERT 1957).
Bei "latenten Zellen" hat die Bestrahlung mit unterteilten Dosen keinerlei Einfluß auf die Stärke der Wirkung;

der Fraktionierungsfaktor ist 1. Hier gilt das BUNSEN-ROSCOEsche Gesetz. Vertreter der latenten Zellen sind die trockenen Pflanzensamen (NITZGE und IVEN 1938). Auch die Zellen mit lebhafter Zellteilung können sich wie latente Zellen verhalten, wenn sie während der Bestrahlungszeit in einen Zustand der Zellruhe gebracht werden (JÜNGLING 1924, LANGENDORFF 1949, HOLTHUSEN 1951).

Der Fraktionierungsfaktor ist z.B. bei der Röntgenbestrahlung der Haut nicht für alle Gesamtdosen gleich; er wird mit wachsender Gesamtdosis und Stärke der ausgelösten Reaktion kleiner (WACHSMANN 1943, WACHSMANN und BARTH 1949). Erholungsausmaß und Erholungsgeschwindigkeit sind desto größer, je kleiner die verabfolgte Dosis war (HOLTHUSEN 1933). Ein analoges Verhalten findet man beim SCHWARZSCHILDschen Exponenten, wenn bei Dosisverzettelung sichtbares Licht photographisches Material schwärzt.
WACHSMANN (1943) konnte an Hand von experimentellen Untersuchungen an einem Fall von multiplem Haut-Karzinom demonstrieren, daß der Tumor bis zu 20 Einzeldosen ein ähnliches Verhalten wie "normale Zellen" zeigte, sich aber bei stärkerer Fraktionierung wie "vitale Zellen" verhielt.

Abschließend läßt sich feststellen, daß der Fraktionierungseffekt vom Sensibilitätszustand der Zellen und vom Grad der Erholung bestimmt wird. Die Erholungsvorgänge können in Form der intrazellulären Erholung (ELKIND) kurzfristig nach der Strahleneinwirkung eintreten oder durch reaktive Zellproliferation manifest werden. Die exakte Trennung der Sensibilitäts- und Restitutionsfaktoren im bestrahlten Gewebe ist kaum durchführbar.

I. cc Erholungsvorgänge der Haut bei fraktionierter Bestrahlung

Viele Arbeiten beschreiben die Änderung der biologischen Wirkung der Haut durch Modifikation der Fraktionierung; das Hauterythem diente als biologischer Indikator für die verabreichte Dosis.

HOLTHUSEN (1926, 1933, 1936, 1951), KEPP (1943, 1944, 1947, 1949, 1952), MAC COMB und QUIMBY (1936), REISNER (1930, 1932, 1933), WACHSMANN (1943, 1947) und STRANDQUIST (1944) haben die Reaktion der menschlichen Haut bei fraktionierter Röntgenbestrahlung eingehend untersucht. Es fanden sich folgende Gesetzmäßigkeiten, die auch für andere Gewebe, die im Sinne einer Erholung reagieren, Gültigkeit haben:

1. Die Erholungsgeschwindigkeit nimmt mit zunehmender Größe der Einzeldosis ab.

2. Das Erholungsmaß ist um so größer, je kleiner die verabreichte Dosis war.

3. Die Erholung ist niemals ganz vollständig, sie vollzieht sich anfangs schneller, d.h. die Erholungsgeschwindigkeit nimmt mit der Zeit ab und ist nach weniger Stunden erfolgt (ELKIND).

4. Die Erholungsgeschwindigkeit wird um so geringer, je mehr das betreffende Gewebe schon einer Strahlenschädigung ausgesetzt wurde und sich die Strahlenbelastung seiner Verträglichkeitsgrenze nähert.

5. Die Erholungsgeschwindigkeit ist um so geringer, je weniger reproduktive Tätigkeit das Gewebe aufweist.

Je mehr eine Gesamtdosis in Einzeldosen verteilt wird, um so mehr können sich Erholungsvorgänge geltend machen;

Erholungsausmaß und Erholungsgeschwindigkeit nehmen zu (HOLTHUSEN 1933). War das Gewebe schon strahlenbelasted, so nimmt die Erholungsgeschwindigkeit nach Einstrahlung der Einzeldosis ab. Reicht die folgende Pause zur vollen Auswirkung der Erholungsvorgänge aus, so verbleibt ein kleiner Restschaden, der auch nach größerer Pausenverlängerung bestehen bleibt - eine weitere Erholung läßt sich erst nach Monaten feststellen (KEPP und SEYFARTH). Auf den bestehenbleibenden Restschaden baut der durch die nächste Einzelbestrahlung verursachte Schaden auf. Werden Bestrahlungsdosen bis zur Größe der biologischen Erythemdosis (Biologische Erythemdosis ist die Dosis, die bei einer bestimmten Dosisleistung und Fraktionierung zum Normalerythem führt (KEPP 1952)) fraktioniert verabreicht, so ergibt eine Verlängerung der Pausendauer über 24 Stunden keinen Rückgang des Erythemeffektes, da diese Zeit für die größtmögliche Erholung ausreicht (KEPP und SEYFARTH 1947). Liegt die Gesamtdosis über der biologischen Erythemdosis, so laufen auch jenseits von 24 Stunden noch Erholungsvorgänge ab und eine Pausenverlängerung über 24 Stunden bedeutet einen weiteren Rückgang der Gewebsreaktion (REISNER 1932).

Die Erholungsgeschwindigkeit ist nicht konstant. Erholungsvorgänge beginnen in den ersten Stunden nach der Bestrahlung, ihr Tempo ist bis zur vierten Stunde etwa gleich groß. Eine starke Erholung erfolgt zwischen der vierten und achten Stunde. Bis zur zwölften Stunde setzen sich die Erholungsvorgänge langsamer fort und laufen bis zur vierundzwanzigsten Stunde in sehr verlangsamtem Tempo aus (HOLTHUSEN, KEPP, REISNER, RENNEKAMP). Ob die Erholungsvorgänge bis auf den bestehenbleibenden Restschaden in 24 Stunden abgelaufen sind, hängt von der Vorschädigung und der Höhe der Einzeldosis ab.

Bei großen Einzeldosen und großen Intervallen kommt es

zu einer Steigerung des Effektes, wenn Einzeldosen in den Bereich der zweiten Erythemwelle fallen (KEPP 1949). Die Empfindlichkeit des hyperämisierten Gewebes ist erheblich gesteigert (HOLTHUSEN 1933, REISNER 1932, 1933).

Vorschädigung, Größe der Einzeldosen und die Pausendauer zwischen den Bestrahlungen sind für Gewebe, die auf Fraktionierung im Sinne einer Wirkungsminderung reagieren, von Bedeutung.

Weitere Bezugsgrößen des biologischen Effektes bei Bestrahlung mit verteilten Dosen sind die Protrahierung, die Strahlenqualität und die Feldgröße.

Um einen Protrahierungseffekt bei fraktionierter Bestrahlung der Haut zu erzeugen, sind Bestrahlungszeiten von etwa einer Stunde erforderlich (CHAOUL und WACHSMANN 1953). STRANDQUIST (1944) fand bei fraktionierter Bestrahlung keinen Unterschied der Hautwirkung, wenn die Intensität der Einzelbestrahlung im Verhältnis 1 : 10 variiert wurde und zwar weder im Intervall 5-50 R/min noch in dem von 25-250 R/min.

Die Strahlenqualität kann in den Grenzen von o,1 - 1,7 mm Cu HWS unberücksichtigt bleiben (STRANDQUIST 1944). Die mittlere Ionisationsdichte ist bei Erzeugungsspannungen von 10 - 200 kV etwa gleich, so daß innerhalb dieses Spannungsbereiches die RBW annähernd gleich ist (EICHHORN 1959).

Der Fraktionierungseffekt der Haut ist von der Feldgröße abhängig. PATERSON (1948, 1952) fand bei 200 kV und Cu-Filter eine gleiche Hautreaktion, wenn er 3.ooo R in vier Tagen bei einer Feldgröße von 25 cm^2 oder 2.ooo R in vier Tagen bei 150 cm^2 Feldgröße verabreichte.

I. d Überblick über die bisherigen Ergebnisse der Wirkung des Cyclophosphamids auf die Antikörperbildung

Zytostatisch und zytotoxisch wirkende Substanzen beeinflussen die Antikörperbildung (HEKTOEN und CORPER). Auch bei dem Zytostatikum N, N-Bis (2-chloraethyl)-N'O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Cyclophosphamid, Endoxan^{R}, Hersteller Asta-Werke AG, Brackwede, Westf.) ist eine Einwirkung auf die Anitkörperproduktion bekannt. Es kommt unabhängig davon, ob die Antigengabe vor oder nach Behandlungsbeginn mit dem Cyclophosphamid erfolgt, zu einer ausgeprägten Hemmung der Immunkörperproduktion (STENDER, RINGLEB, STRAUCH und WINTER). Dieses Verhalten steht damit im Gegensatz zu den ebenfalls die Antikörperbildung beeinflussenden Röntgenstrahlen.

Das Ausmaß der Hemmung ist allein von der Größe der Dosis des Zytostatikums abhängig, der unterschiedliche Funktionszustand des lymphoretikulären Gewebes bedingt keine Änderung der Schädigung; in dieser Beziehung weder mit mehreren kleinen Konzentrationen nach mit einer einmaligen Großdosis. Im histologischen Bild wird die Proliferation des lymphoiden Gewebes und die Induktion von Plasmazellen unterdrückt. Der Ruhekern wird in seiner aktiven Stoffwechselphase geschädigt (STENDER, STRAUCH und WINTER).

DRUCKREY und Mitarb. wiesen 1963 nach, daß die Resistenz von einigen Transplantationstumoren durch eine genügend hohe Dosis des Cyclophosphamids zu durchbrechen ist. Der Verfasser nimmt an, daß die therapeutische "Wirkform" des Cyclophosphamids nicht mit der toxischen identisch ist; die Kumulationsgröße der therapeutischen Wirkung soll stärker als die der toxischen sein. DRUCKREY fand eine etwa gleich große leukotoxische Wirkung bei massierter Verabreichung in entsprechend großen, von der Dosis

abhängigen Intervallen und fraktionierter Anwendung mit kleinen täglichen Dosen.

Aus diesem Verhalten ergibt sich die Frage nach der Kumulationsgröße der Schädigung der Antikörperbildung, wenn unter Berücksichtigung der von der Dosis abhängigen Zeitintervalle vorher mit großen oder kleinen Dosen des Cyclophosphamids behandelt wurde.

II. Fragestellung der Arbeit

In den vorangegangenen Erörterungen wurde die Plasmazelle als Ort der Antikörperbildung herausgestellt, die durch Aktivierung lymphoider Zellen vor allem im lymphoretikulärem Gewebe entsteht. Über die Beeinflussung der Antikörperbildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Bestrahlung, der Höhe der Strahlendosis, der Tierart und vom Ort der Bestrahlung wurde berichtet. Die unterschiedliche biologische Wirkung bei fraktionierter Röntgenbestrahlung und deren Deutungsversuche wurden dargestellt.

Da in der Literatur mit Ausnahme von Kleinlebewesen (Ascariseier) und Pflanzenkeimlingen (Vicia faba) den meisten Versuchsserien Organe oder Funktionseinheiten als Testobjekte dienten, wurde hier auf eine Unterteilung in Ganzkörperbestrahlung und Teilbestrahlung verzichtet. Die biologische Wirkung differierte bei den oben genannten Bestrahlungsobjekten je nach der Aktivität ihrer Zellen und unterschied sich nicht von den bei Teilbestrahlung gewonnenen Ergebnissen.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, an einem homogenen Tiermaterial den Einfluß einer unterschiedlich fraktionierten Gesamtdosis einer Ganzkörperbestrahlung auf die Bildung der spezifischen Globuline zu prüfen. Hierbei werden die Serumantikörper zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Antigengabe bestimmt. Bei einigen Tiergruppen sollen die serologischen Veränderungen mit denen des histologischen Bildes des lymphoretikulären Gewebes in Milz und Lymphknoten verglichen werden.
Da die fortlaufende Bestimmung der Serumantikörper die Veränderung der Leistung des lymphoretikulären Gewebes erfaßt, kann die Ganzkörperbestrahlung in diesem Sinne auch als Teilbestrahlung eines Organes aufgefaßt werden.

Große und kleine Konzentrationen des Cyclophosphamids,

die vor oder nach der Antigengabe verabreicht werden, verursachen keinen eindeutigen Wirkungsunterschied auf die verschiedenen Phasen der Antikörperbildung.

Da eine unterschiedliche Kumulationsgröße bezüglich der therapeutischen Wirkung und der der toxischen gefunden wurde, soll im zweiten Teil untersucht werden, wie eine vor der Erst- oder Zweitinjektion des Antigens massiert oder fraktioniert verabreichte Dosis des Zytostatikums die Antikörperbildung beeinflußt. Die Agglutininbildung gibt über das Ausmaß der Schädigung, die Kumulationsgröße und den Grad der Erholung des lymphoretikulären Gewebes Aufschluß.

III. Material und Methode

Als Versuchstiere verwandten wir junge weibliche Albinoratten mit einem Gewicht von 120 - 150 g. Die Tiere erhielten eine Standardkost.

Als Antigen benutzten wir eine Suspension von hitzeabgetöteter Brucella melitensis mit einem Keimgehalt von 6 x 10^{11}/ml, Hersteller Dr. D. Strauch, Gießen. Von dieser Aufschwemmung wurde bei den Untersuchungen, bei denen wir Röntgenbestrahlungen durchführten, o,2 ml/100 g Körpergewicht ip. injiziert; o,1 ml/1oo g Körpergewicht bzw. als Zweitinjektion nach 24 Tagen nochmals die gleiche Dosis ip. erhielten Tiergruppen, bei denen mit einem cyclischen N-Lost-Phosphamidester eine Schädigung verfolgt werden wollte.

Die Agglutinine im Serum wurden in absteigender Verdünnungsreihe mit der Langsam-Agglutination bestimmt. Nach den Empfehlungen der WHO war als Endtiter die Verdünnungsstufe festgelegt, bei der als letzte eine Agglutination von 50 % und mehr festgestellt wurde. Zur Serumgewinnung töteten wir die Ratten durch Schlag in den Nacken, dekapitierten und ließen sie in ein Reagensglas ausbluten.

Bezugspunkt für die Zeitangaben ist der Tag der Antigengabe; er wurde als Tag 0 angenommen. Die Antikörpertiter bestimmten wir in viertägigem Abstand: am vierten, achten, zwölften, sechzehnten, zwanzigsten und teilweise am vierundzwanzigsten und achtundzwanzigsten Tag. Die Endtiter wurden reziprok genommen und dann im $\log_2$ angegeben. Die hieraus errechneten Mittelwerte und deren mittlerer Fehler wurden bestimmt. Die Mittelwerte der Endtiter beziehen sich auf 6 - 8 Tiere pro Untersuchungstag.

Die Signifikanzberechnung erfolgte nach dem t-Test. Signifikanz wurde bei $p < o,o1$ angenommen.

Um den Titerverlauf mit den morphologischen Veränderungen vergleichen zu können, untersuchten wir in einigen Tiergruppen die Milz und die beiden Leistenlymphknoten der linken und rechten unteren Extremität histologisch. Präparate wurden am Tage der Antigengabe, am vierten, zwölften und zwanzigsten Tag angefertigt; zum Vergleich auch von unbehandelten Tieren und Kontrolltieren, die nur das Antigen bekommen hatten.

Zur Fixierung verwandten wir Bouinsche Lösung, eingebettet wurde in Paraffin. Die Mikrometerschraube war auf 4 µ eingestellt. Wir schnitten die Paraffinblöcke eis-

gekühlt. Die Färbung der Präparate erfolgte mit Eisenhaematoxylin-Pikrofuchsin nach HANSEN, Haematoxylin-Eosin und nach einer Kombination von Haemalaun und Giemsa:

Haemalaun- und Giemsafärbung in Kombination

1. Xylol 12 min
2. Absol. Alkohol 5 min (Isopropanol)
3. 96 % " 2 min
4. 70 % " 2 min
5. Ausspülen im Aqua dest.ca. 2 min
6. Kernfärbung mit Haemalaun nach MAYER (Progressiv färben, zwischenzeitlich in Leitungswasser spülen und unter dem Mikroskop die Farbintensität kontrollieren; bei frischer Lösung ca. 6 min Färbung)
7. Fließendes Leitungswasser ca. 10-12 min (Zwischendurch in HCL-Alkohol differenzieren)
8. Kurz in Aqua dest. eingeben (Möglichst ph 7)
9. Färbung in Giemsa-Lösung 18 min (3 ccm Giemsa-Stammlösung auf 1oo ccm Aqua dest. von ph 7; kann durch Pufferung (s.ROMEIS) oder längeres Kochen erzielt werden)
10. Spülen in gepuffertem Aqua dest.
11. 70 % Alkohol 2 min
12. 96 % " 1 min
13. Absol. " 1 min
14. Xylol 10-13 min
15. Eindecken in Eukitt oder Kanadabalsam

Wir bestrahlten unter Tiefentherapiebedingungen: 200 kV, 20 mA, HWS 1,1 mm Cu. Jeweils 10 Ratten wurden dazu in einen ca. 30 x 30 cm messenden flachen Kasten gesetzt, in dem sie durch seine besondere Form nebeneinander sitzen mußten, so daß eine Ganzkörperbestrahlung gewährleistet war. In halber Höhe des Tierkörpers wurde mit einem Hammerdosimeter eine Dosisleistung von 50 R/min gemessen. Bei dem von uns benutzten Rattenstamm lag die $LD_{50/30}$ bei 6oo R.
Bei Gesamtdosen von 3oo R und 4oo R änderten wir den Fraktionierungstyp: 3oo R wurden in 12 gleichbleibenden Einzeldosen zu 25 R, 6 Einzeldosen zu 50 R, 3 Einzeldosen zu 1oo R und als Einzeitbestrahlung verabreicht. Die Gesamtdosis von 4oo R fraktionierten wir zwanzigfach mit Einzeldosen zu 20 R, achtfach mit Einzeldosen von 50 R und gaben sie auch als Einzeitbestrahlung. In der Regel wurde eine Bestrahlungspause von 24 Stunden eingeschaltet, wobei auch sonntags bestrahlt wurde.
Bei 400 R Gesamtdosis wählten wir zusätzlich größere Intervalle: hier wurden bei einer Einzeldosis von 100 R Pausen von ein, zwei und drei Tagen eingeschaltet.

Ein cyclischer N-Lost-Phosphamidester, das N,N-Bis-(2-chloraethyl)-N'O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Endoxan^{R} der Asta-Werke AG, Brackwede in Westf.) wurde den Ratten in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst ip. injiziert.

Nach STENDER, STRAUCH und WINTER (1961) liegt bei unserem Rattenstamm die $LD_{50/30}$ bei 150 mg/kg Körpergewicht, wenn die Dosis einmalig ip. appliziert wird. Wir verabreichten jetzt eine Gesamtdosis von 80 mg/kg, die massiert zu 2 x 40 mg/kg im Abstand von 10 Tagen und fraktioniert in zwanzigmal täglich 4 mg/kg Körpergewicht gegeben wurde.

Zur Beurteilung der aus dem Serum gewonnenen Antikörperwerte beobachteten wir in Anlehnung an TALIAFERRO folgende Bezugspunkte:

1. die Zeit, die nach der Antigengabe bis zum Auftreten der serologisch feststellbaren Agglutinine verging; wir nannten sie Anlaufszeit;
2. die Zunahme der Antikörper bis zum Spitzentiter; wir bezeichneten sie als Anstiegsrate und
3. die Höhe des Spitzentiters.

Der Spitzentiter steht nach TALIAFERRO in enger Beziehung zur Gesamtmenge der gebildeten Antikörper.

IV. A Der Einfluß unterschiedlich fraktionierter Ganzkörperbestrahlung auf die nachfolgende Antikörperbildung

Da das Antigen erst nach Beendigung der fraktionierten Bestrahlung gegeben wurde, hängen die Größe der Anlaufszeit, die Anstiegsrate und die Höhe des maximalen Titers von dem Ausmaß der noch vorhandenen Schädigung bzw. der schon eingetretenen Erholung des Antikörper produzierenden Gewebes ab.

a. Die Wirkung einer einmalig oder unterschiedlich fraktionierten Gesamtdosis von 300 R

Die Beeinflussung der Antikörperproduktion wurde bei einer Gesamtdosis von 300 R und 24-stündiger Bestrahlungspause durch Variation der Einzeldosen untersucht. Um den Einfluß unterschiedlicher Fraktionierung zu erfassen, wählten wir als Kontrollen die Agglutininbildung, die bei Ratten beobachtet wurde, welche erstens nur sensibilisiert worden waren und die zweitens 300 R als Einzeitbestrahlung bekommen hatten.

Bei den nicht bestrahlten Ratten waren nach der Antigengabe vom vierten Tage ab Antikörper serologisch zu erfassen. Am achten Tag wurde der Maximaltiter mit 10,2 gemessen; am zwölften Tage lag er noch in der gleichen Größenordnung (Tab. 1). Anschließend fiel er ab.

Bei der Einzeitbestrahlung mit 300 R lag das Titerniveau am tiefsten; besonders auffällig war die sehr langsame Zunahme zum flachen Maximum, das am siebzehnten Tage mit 7,9 erreicht wurde.

Die mit 3 x 100 R bestrahlte Gruppe zeigte gegenüber

den nur sensibilisierten Tieren eine Verlängerung der Anlaufszeit um vier Tage. Am achten Tag betrug der Titer 3,8 gegenüber 10,2 der unbestrahlten Kontrolltiere. Der Titeranstieg war zwar steiler als bei der einzeitig applizierten Dosis, aber gegenüber dem Anstieg der Kontrollkurve verzögert (Abb. 1). Der höchste Titer wurde am siebzehnten Tage mit 9,6 gemessen.

Tab. 1

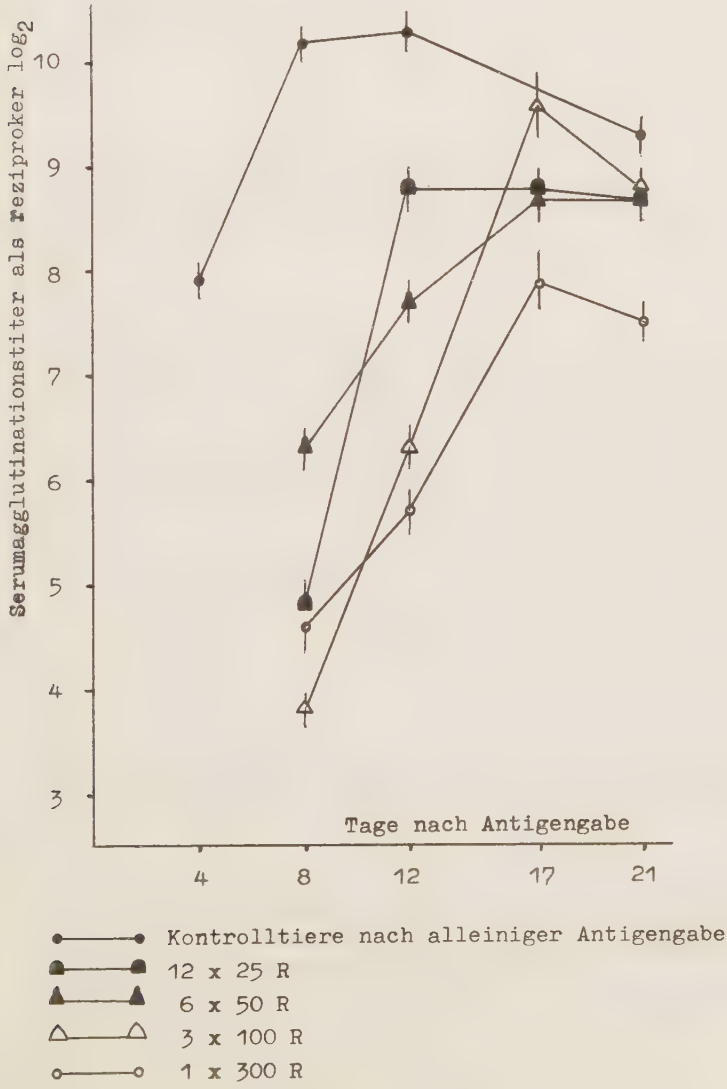
Verhalten der Agglutinationstiter im Serum nach verschieden fraktionierter Ganzkörperbestrahlung vor ip. Injektion von Antigen; Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung. Gesamtdosis 300 R, tägliche Bestrahlung.

Mittelwert der Endtiter mit mittlerem Fehler des Mittelwertes als $\log_2$

Versuchsgruppe	Serumtiter 4. Tag	8. Tag	12. Tag	17. Tag	21. Tag
Nur Antigengabe	7,9 ± 0,18	10,2 ± 0,15	10,3 ± 0,22		9,3 ± 0,18
1 x 300 R	Ø	4,6 ± 0,28	5,7 ± o,2	7,9 ± 0,29	7,5 ± 0,2
3 x 100 R	Ø	3,8 ± 0,18	6,3 ± 0,19	9,6 ± 0,28	8,8 ± 0,22
6 x 50 R	Ø	6,3 ± 0,21	7,7 ± 0,21	8,7 ± 0,21	8,7 ± 0,21
12 x 25 R	Ø	4,8 ± 0,27	8,8 ± 0,23	8,8 ± 0,2	8,7 ± 0,21

Abbildung 1

Verhalten der Agglutinationstiter nach verschieden fraktionierter Ganzkörperbestrahlung vor ip. Injektion des Antigens; Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung. Gesamtdosis 300 R, tägliche Bestrahlung



In einer weiteren Versuchsgruppe unterteilten wir die Gesamtdosis in 6 x 50 R. Auch hier war wie bei allen anderen Tiergruppen, die diese Gesamtdosis erhielten, die Anlaufszeit um vier Tage verlängert. Am achten Tag erfaßten wir einen Titer von 6,3, der gegenüber der Einzeitbestrahlung höher lag. Von diesem Titerniveau verläuft die Kurve flach zum Spitzentiter, der am siebzehnten Tag mit 8,7 erreicht wurde.

Fast den gleichen Titer erreichten die Tiere, denen wir zwölf Tage lang täglich 25 R verabreichten. Die beiden Kurven unterscheiden sich im wesentlichen dadurch, daß hier der Spitzentiter schon am zwölften Tage festgestellt wurde.

Eine Erniedrigung der Antikörpertiter der bestrahlten Tiere gegenüber nur sensibilisierten ist deutlich ($p < 0{,}001$). Ein Vergleich der Einzeitbestrahlung mit der fraktionierten Behandlung zeigt, daß der Spitzentiter bei 1 x 300 R am stärksten deprimiert, aber zwischen den einzelnen Fraktionierungstypen kein signifikanter Unterschied vorhanden ist.

Die Gesamtdosis von 300 R war wohl zu niedrig gewählt, so daß die Erholungsvorgänge den besonderen Fraktionierungseffekt überlagern.

b. Wirkung einer einmalig oder unterschiedlich fraktionierten Gesamtdosis von 400 R

Die erste Gruppe von 35 Ratten erhielt 400 R als Einzeitbestrahlung. Hier wurde die Antikörperproduktion am meisten geschädigt. Die Anlaufszeit war stark verlängert, die ersten Agglutinine wurden am zwölften Tage nachgewiesen (Tab. 2). Der Spitzentiter wurde mit

7,8 Einheiten am sechzehnten Tage erreicht. Nach Unterteilung in 8 x 50 R in täglichem Abstand ergab sich ebenfalls eine verzögerte Anlaufszeit; die ersten Antikörper fanden wir bei den Tieren, die wir am zwölften Tage nach der Antigengabe töteten. Der Titer betrug 7,6. Vier Tage vorher waren noch keine Agglutinine nachzuweisen, so daß auf einen verhältnismäßig steilen Anstieg geschlossen werden kann. Der Anstieg zum mittleren Spitzentiter verlief ebenfalls sehr steil und erreicht am siebzehnten Tage mit 10,7 einen Wert, der praktisch im Bereich der Kontrollkurve der nur sensibilisierten Tiere liegt (Abb. 2). Bis zum zwanzigsten Tage sank der Agglutinationstiter langsam auf 9,7 ab.

In der dritten Gruppe wurden die Ratten zwanzig Tage lang täglich mit 20 R bestrahlt. Die Anlaufszeit war gegenüber der Kontrollkurve um vier Tage verlängert, gegenüber den durch die Einzeitbestrahlung gewonnenen Werten aber um vier Tage verkürzt. Ein Vergleich der Anstiegsrate und des mittleren Spitzentiters der zweiten Gruppe (8 x 50 R) mit dieser Gruppe zeigt, daß bei einer Fraktionierung von 20 x 20 R die Anstiegsrate deutlich erniedrigt ist. Der am sechzehnten Tage erreichte mittlere Spitzentiter ist mit 9,5 signifikant ($p < 0,01$) gegenüber 10,7 der vorigen Gruppe erniedrigt. Am zwanzigsten Tage ist der durch 20 x 20 R erreichte größere Schaden immer noch deutlich, obwohl der Unterschied durch zunehmende Erholungsvorgänge geringer geworden ist.

Tab. 2

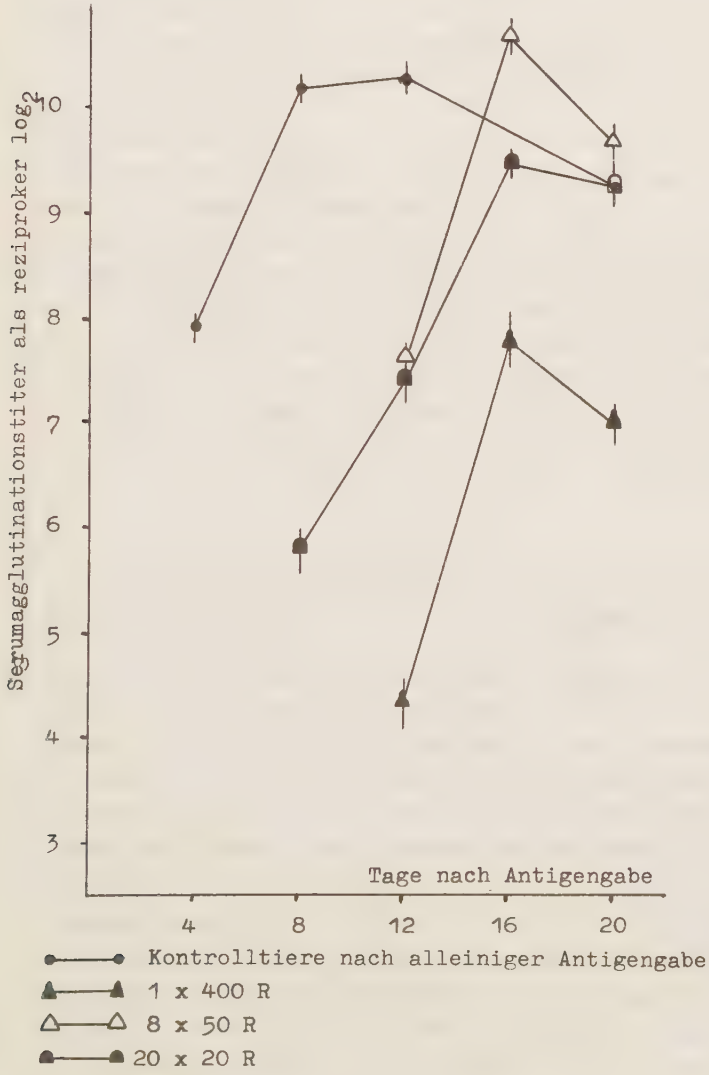
Verhalten der Artikörper im Serum nach unterschiedlich fraktionierter Ganzkörperbestrahlung vor ip. Injektion von Antigen; Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung. Gesamtdosis 400 R, tägliche Bestrahlung.

Mittelwert der Endtiter mit mittlerem Fehler des Mittelwertes als $\log_2$

Versuchsgruppe	Serumtiter				
	4. Tag	8. Tag	12. Tag	16. Tag	20. Tag
Nur Antigengabe	7,9 ± 0,18	10,2 ± 0,15	10,3 ± 0,22		9,3 ± 0,18
1 x 400 R	ø	ø	4,3 ± 0,26	7,8 ± 0,29	7,0 ± 0,2
8 x 50 R	ø	ø	7,6 ± 0,17	10,7 ± 0,2	9,7 ± 0,2
20 x 20 R	ø	5,8 ± 0,2	7,4 ± 0,21	9,5 ± 0,16	9,3 ± 0,0

Abbildung 2

Verhalten der Agglutinationstiter nach verschieden fraktionierter Ganzkörperbestrahlung vor ip. Injektion des Antigens; Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung. Gesamtdosis 400 R, tägliche Bestrahlung



bb. Histologische Ergebnisse

Verhalten des Zellbildes von Milz und Lymphknoten nach einer einzeitig oder unterschiedlich fraktionierten Gesamtdosis von 400 R; Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung

Zum Vergleich mit den serologischen Ergebnissen wurden bei der Serie A b histologische Präparate von Milz und Lymphknoten angefertigt. Zur Beurteilung des histologischen Bildes werteten wir den Zellreichtum des Organs, die Zahl und Größe der Follikel und das Verhalten des Follikelzentrums aus. Wir verglichen die Zahl der Lymphozyten, Plasmazellen und Retikulumzellen der bestrahlten Tiere mit derjenigen, die wir bei Präparaten gefunden hatten, die von Milz und Lymphknoten gesunder Normaltiere und nur sensibilisierter Ratten angefertigt worden waren.

Das histologische Bild der Milz und des Lymphknotens gesunder Normaltiere

Die Milz gesunder Normaltiere zeigt ein in gewissen Grenzen variierendes Bild: es finden sich sowohl ruhende Primärfollikel, deren Grenzen unscharf in die Pulpa überleiten als auch durch einen Lymphozytenwall scharf begrenzte, aktive Sekundärfollikel, deren Größe und Germinoblastenanhäufung wiederum unterschiedlich sind.

Die Pulpa zeigt im Verhältnis zu den Follikel eine lockere Zellverteilung: zwischen faserreichen Trabekeln liegen weit verstreut meist ovale Retikulumzellen, die selten Merkmale von Aktivität zeigen. Außer diesen Retikulumzellen trifft man auf verstreute oder in Gruppen angeordnete Pulpalymphozyten und einzelne Plasmazellne-

ster, deren größerer Zellteil reif ist und deren geringerer Teil aus Vorstufen besteht. Vereinzelt finden sich basophile Stammzellen, neutrophile und eosinophile Granulozyten.
Die Lymphknoten sind meist schmal und langgestreckt. Dort, wo die schon makroskopisch sichtbaren Tertiärfollikel anzutreffen sind, nehmen sie ca. 2/3 und das Mark 1/3 des queren Durchmessers ein. Sie sind voller Lymphozyten, zwischen denen isoliert oder auch gruppiert Germinoblasten eingebettet sind. Im übrigen liegen in der Rinde Primär- und einzelne Sekundärfollikel. Dort, wo sie entstanden sind, nimmt das Mark 2/3 bis 3/4 des queren Durchmessers ein. Die Markstränge sind schmal und erscheinen schlaff. Sie enthalten langgestreckte Retikulumzellen, zwischen denen Lymphozyten und ganz vereinzelt reife Plasmazellen gelegen sind. Die Räume zwischen den Marksträngen erscheinen teils optisch leer, teils sind sie dünn mit Lymphozyten belegt.

Verhalten des Zellbildes nach Antigengabe

Diese Gruppe erhielt 0,2 ml Brucellenantigen ip.
Am vierten Tage nach der Antigengabe fallen drei Einzelheiten auf: fast alle Knötchen sind in große Sekundärfollikel umgewandelt, die Zahl der Lymphozyten hat stark zugenommen, und in der Milzpulpa treten jetzt vermehrt Zellnester hervor, die ein stark basophiles Zytoplasma aufweisen; es sind lymphoide Zellen und junge Plasmazellen. Ganz ähnlich ist das Bild in den Lymphknoten: neben den gleichen Veränderungen in den Follikeln findet man in den Marksträngen neben Vorstufen von Plasmazellen auch schon reife.

Am achten und zwölften Tage nach der Antigengabe ist die Zellproliferation noch deutlicher geworden: große Sekundärfollikel mit einem dichten, breiten Lymphozytenwall; in der Pulpa neben Lymphozyten, aktivierten Retikulumzellen und basophilen Stammzellen viele dunkelbasophile Nester mit lymphoiden Zellen, unreifen und ausgereiften Plasmazellen.

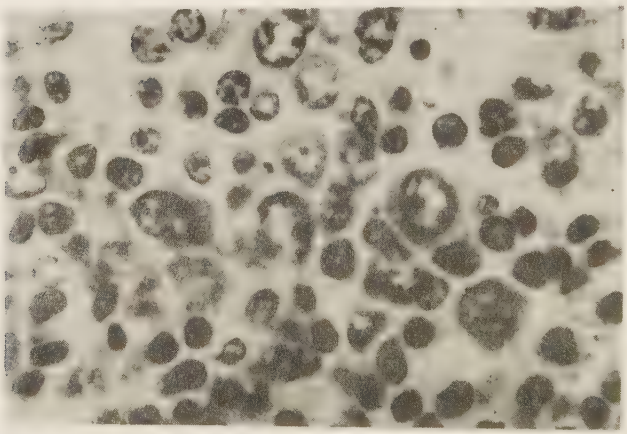


Abbildung 3

Ausschnitt aus der Milzpulpa, zwölfter Tag nach 0,2 ml Brucellenantigen. Basophiles Zellnest mit lymphoiden Rundzellen, unreifen Plasmazellen, daneben aktivierte Retikulumzellen und basophile Stammzellen (Hämalaun-Giemsa).

Bezüglich der Topographie fällt auf, daß diese Nester besonders häufig um Trabekel gruppiert sind, ein anderes Mal liegen sie um ein größeres Gefäß. Die Markstränge der Lymphknoten sind durch einen Maximalzell-

gehalt breit und verplumpt geformt; in dieser Markhyperplasie sieht man zahlreiche dicht gelagerte Plasmazellen, die durch die Hämalaun-Giemsafärbung besonders zur Darstellung kommen. Der Vergleich der Plasmazellen in Milz und Lymphknoten zeigt, daß in den Lymphknoten die Plasmazellen früher ausgereift sind.

Am einundzwanzigsten Tag nach der Antigengabe stehen die hoch aktiven Sekundärfollikel im Vordergrund. Man hat den Eindruck, daß jetzt die Plasmazellnester kleiner geworden und auch in ihrer Zahl verringert sind. In den Marksträngen der Lymphknoten formieren sich die Plasmazellen locker, die Markzone scheint durch die hyperplastische Rinde zusammengedrängt.

Am vierundzwanzigsten Tage hat sich der Zellgehalt normalisiert, die Primärfollikel überwiegen. Leicht vermehrt ist noch die Zahl der Lymphozyten, während Plasmazellen selten zu entdecken sind.

Die Aktivierung der Retikulumzellen, die Umwandlung der lymphoiden Rundzellen in junge Plasmazellen ist in den Präparaten, die vier Tage nach der Antigengabe angefertigt wurden, sichtbar. Das Maximum der Zellaktivität fällt bei unseren Versuchen auf den achten und zwölften Tag. Die Übereinstimmung mit den Titerwerten der Agglutinine ist deutlich. Am einundzwanzigsten Tag prävaliert die Hyperplasie der lymphozytären Zellen (s.a. EHRLICH, STENDER).

Verhalten des Zellbildes von Milz und Lymphknoten nach einer einzeitig verabreichten Dosis von 400 R

Das histologische Bild der Milz und der Lymphknoten 24 Stunden nach einer Ganzkörperbestrahlung von 400 R zeigt die Strahlenschädigung des lymphoretikulären Gewebes.

Die untersuchten Organe sind zellarm. Die großen Rindenfollikel der Lymphknoten sind geschrumpft, ebenso die Follikel in der Milz. Sie liegen weit auseinander und sind im Gegensatz zu den untersuchten Organen gesunder Normaltiere nahezu frei von Lymphozyten. Die Knötchen enthalten ruhende, locker gelagerte Retikulumzellen. In der Pulpa beherrschen mittelgroße ovale Retikulumzellen das Bild, die teils Merkmale von Aktivität zeigen. Daneben finden sich relativ viel ausgereifte Plasmazellen und neutrophile Granulozyten. Die Markstränge der Lymphknoten enthalten locker verteilte, meist reife Plasmazellen.

Vier Tage nach der Antigengabe, fünf Tage nach der Ganzkörperexposition sieht das Zellbild noch ganz ähnlich aus. In der Milz sind aber vereinzelt Mitosen im Rand der atrophischen Follikel und einige wenige Lymphozyten aufgetreten. Die Lymphknoten sind vergleichsweise zellreicher: in den geschrumpften Rindenfollikeln trifft man auf dünn ausgesäte Lymphozyten mit vereinzelt auftretenden basophilen Stammzellen. Die Dichte und der Reifungsgrad der Plasmazellen beider Organe haben sich nicht verändert.

Am zwölften Tag nach der Antigengabe ist der Zellgehalt der Milzpulpa vermehrt, während er in den Malpighischen Körperchen immer noch stark vermindert ist. Das Bild wird von Zellformationen beherrscht, die sich als verschiedene Reifestufen von Plasmazellen klassifizieren lassen. Es sind besonders viel junge Zellen. Dazwischen kommen viel Plasmazellen mit dichtem Kern zur Beobachtung. Zwischen den teilweise konfluierenden Plasmazellnestern liegen - durch einen zellarmen Ring getrennt - die atrophischen Follikel, in deren Zentrum um das Zentralgefäß herum sich einige wenige Lymphozyten formieren. Die gleichen Zellverhältnisse können in den Lymphknoten unterschieden werden: die Rinde mit ihren

Follikeln ist atrophisch, sie besteht aus kleinen, teilweise aktivierten Retikulumzellen und wenig Lymphozyten. Zwei Drittel des queren Durchmessers des Organs in der Schnittebene nimmt das hyperplastische Mark ein; hier proliferieren die gleichen Zellen wie in der Milzpulpa.

Am zwanzigsten Tag nach der Antigengabe hat sich das Bild noch nicht normalisiert. Besonders in der Milz sind die Follikel klein, und die Zahl ihrer Lymphozyten entspricht nicht der Normalverteilung. Ganz vereinzelt bilden sich im Zentrum Germinoblasten aus. In Plasmazellnestern zeigen sich viele unreife Zellen: Proplasmazellen, lymphoide Retikulumzellen und viele pyknotische Zellen.

Auffallend ist der Reichtum an sehr großen Zellen, deren wasserhelle, retikuläre Kerne einen oder mehrere Nukleolen aufweisen. Dieser Kern ist entweder mehrfach gelappt oder die Lappung geht bis zur Trennung, so daß Riesenzellen entstehen. Das im Verhältnis zum Kern häufig große Zytoplasma färbt sich graublau und erscheint homogen. Möglicherweise handelt es sich um durch amitotische Teilung oder Konfluenz entstandene retikuläre Riesenzellen, die in bestrahltem Gewebe beobachtet worden sind und nach REBUCK auch bei Brucellose auftreten können. Nach LENNERT haben sie eine stoffverarbeitende Funktion.

In den Lymphknoten hat sich das Zellbild schon weiter normalisiert als in der Milz. Die Rindenfollikel sind groß und enthalten zahlreiche Lymphozyten. In den Marksträngen herrscht das polymorphe Bild verschiedener Plasmazellreifegrade. Das Zytoplasma der reifen Plasmazellen scheint geringer basophil und inhomogen.

400 R vierundzwanzig Stunden vor der Antigengabe als Ganzkörperbestrahlung verabreicht, führen in Milz und

Lymphknoten zu einer beträchtlichen Zellschädigung. Im histologischen Schnitt am vierten Tag zeigt sich sowohl eine deutliche Verringerung des Gesamtzellgehalts als auch eine Änderung der Zusammensetzung der Zellen: die Lymphozyten sind verschwunden, sie erreichen trotz Antigenstimulation am zwanzigsten Tage nicht ihre normale Häufigkeit. Die in dem strahlengeschädigten Gewebe anlaufende Plasmazellproliferation ist in den Präparaten, die am zwölften Tage nach der Antigeninjektion angefertigt wurden, erst voll angelaufen.
Auffallend ist, daß 24 Stunden nach Bestrahlung - vor der Antigengabe - relativ viel reife Plasmazellen vorhanden sind. In gleicher Häufigkeit findet man diese reifen Plasmazellen auch am vierten Tage.

Verhalten des Zellbildes von Milz und Lymphknoten nach fraktionierter Ganzkörperbestrahlung mit 8 x tgl.50 R

24 Stunden nach Abschluß der fraktionierten Bestrahlung ist der Zellgehalt im Schnittbild verringert. Die Follikel sind verkleinert, zwischen den lose verteilten, mittelgroßen Retikulumzellen entdeckt man einige Germinoblasten mit Follikellymphozyten. In der im Verhältnis zu den Follikeln zellarmen Pulpa finden sich häufig kleine basophile Nester, die hauptsächlich aus reifen Plasmazellen bestehen. In den Follikeln der Lymphknoten liegen die Lymphozyten wesentlich dichter, vereinzelt trifft man auf kleine Germinoblastennester. Im Vordergrund steht hier eine Markhyperplasie mit zahlreichen reifen Plasmazellen.

Am vierten Tag nach der Antigengabe ist die Lymphozytendichte gering vermehrt, sonst sieht man das

gleiche Bild.

Am zwölften Tag zeigt sich ein stark proliferierendes Gewebe. Die Milzfollikel bestehen aus dicht gelagerten Lymphozyten mit zentralen Germinoblastennestern. In der Pulpa ist in einigen Präparaten die Plasmazellproliferation derart stark, daß die Herde konfluieren. Jetzt enthalten die Plasmazellanhäufungen vornehmlich junge Elemente: lymphoide Rundzellen, Proplasmazellen und junge Plasmazellen.

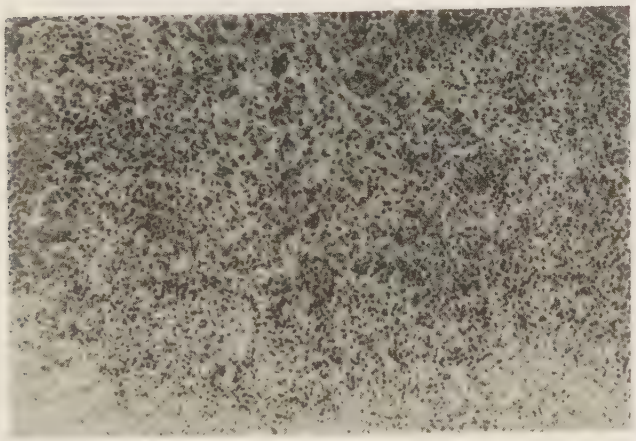


Abbildung 4

Ausschnitt aus der Milzpulpa nach fraktionierter Ganzkörperbestrahlung (8 x tgl. 50 R), zwölfter Tag nach der Antigengabe. Konfluierte Zellanhäufungen mit lymphoiden Rundzellen, Proplasmazellen und jungen Plasmazellen.

In den Lymphknoten trifft man auf das gleiche Bild, nur daß in den Marksträngen mehr reife Plasmazellen liegen.

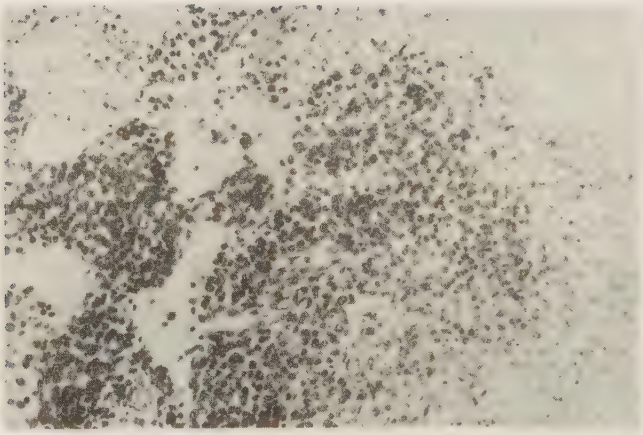


Abbildung 5

Ausschnitt aus der Markzone eines Leistenlymphknotens, gleiche Versuchsbedingungen wie bei Abb. 4. - Markhyperplasie mit überwiegend reifen Plasmazellen (Hämalaun-Giemsa).

Während am zwölften Tag die Plasmazellproliferation in der Pulpa das Bild beherrscht, stehen am zwanzigsten Tage die großen äußerst zellreichen Follikel im Vordergrund. Die Zahl der Plasmazellen hat abgenommen; wo man sie sieht, sind es in der Mehrzahl Vorstufen.

Der Vergleich der histologischen Bilder dieser fraktioniert mit 8 x 50 R bestrahlten Gruppe mit denen der vorigen (1 x 400 R) zeigt einen geringeren Strahlenschaden. Die Depression der Lymphozyten wird eher überwunden. Gemeinsam findet man bei beiden Gruppen 24 Stunden nach

der letzten Bestrahlung - vor der Antigengabe - Plasmazellen; es herrschen die reifen Zellen vor. Die Präparate, die am zwölften Tag angefertigt wurden, zeigen bei beiden Gruppen ein stark proliferierendes Gewebe.

Verhalten des Zellbildes von Milz und Lymphknoten nach fraktionierter Ganzkörperbestrahlung mit 20 x tgl.20 R

Das Zellbild 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung gleicht dem entsprechenden Bild der letzten Gruppe (8 x 50 R): lose verteilte Lymphozyten in den kleinen Follikeln, relativ häufig basophile Nester mit reifen Plasmazellen in der Pulpa oder in den Markssträngen der Lymphknoten.

Auch vier Tage nach der Antigengabe erinnert das histologische Bild an das entsprechende der vorigen Gruppe. Das Gewebe ist zellarm, die Lymphozytendichte in den Follikeln scheint vermehrt. Die Plasmazellnester in der Pulpa enthalten häufiger junge Zellen.

Am zwölften Tag hat die Zellzahl nur wenig zugenommen: während in den Follikeln der Milz jetzt mehr Lymphoblasten und Germinoblasten liegen, ist die Milzpulpa weiterhin relativ zellarm; die basophilen Nester haben weder an Zahl noch an Größe zugenommen.

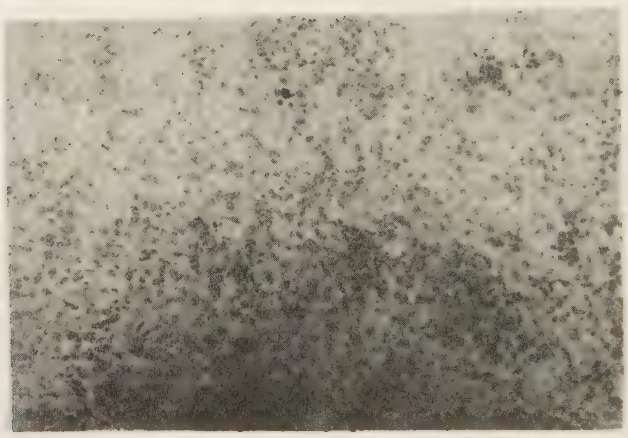


Abbildung 6

Ausschnitt aus der Milzpulpa nach fraktionierter Ganzkörperbestrahlung (20 x tgl. 20 R), zwölf Tage nach der Antigengabe. Wesentlich zellärmer als Abb. 4. Zahl und Umfang der basophilen Pulpanester vergleichsweise klein.

Vergleichsbilder aus der vorigen Gruppe (8 x 50 R) zeigen einen deutlich höheren Zellgehalt. Die Plasmazellnester sind in dieser Gruppe am zwölften Tag wesentlich kleiner. Dieser deutliche Unterschied kommt in den Lymphknoten nicht zur Darstellung.

Auch am zwanzigsten Tag ist der größere Schaden bei dieser Fraktionierung (20 x 20 R) noch deutlich zu sehen. Die Follikel erscheinen kleiner und zellärmer als bei 8 x 50 R, auch die Plasmazelldichte ist geringer. Anteilmäßig sind es besonders viel junge Zellen. Bei den Lymphknoten ist kein Zellschaden mehr nachzuweisen. Hier domi-

nieren die hyperplastischen Rindenfollikel, die die Markstränge zu einer dünnen Zone zusammengestaucht haben.

Während sich die histologischen Bilder des nullten und vierten Tages dieser und der vorigen Gruppe gleichen, kommt bei diesem Fraktionierungstyp (20 x 20 R) am zwölften und zwanzigsten Tag in der Milz eine deutlich verlangsamte Erholung des lymphoretikulären Gewebes und eine verzögerte Plasmazellproliferation zum Ausdruck. Diese Beobachtung steht in guter Korrelation zu den in Rattenseren nachgewiesenen Agglutinationstitern.

c. Der Einfluß der Pausendauer einer fraktioniert verabreichten Ganzkörperbestrahlung auf die später anlaufende Antikörperbildung.

Der Effekt einer fraktionierten Bestrahlung ist von der Größe der Schädigung während der Bestrahlung und der Erholungsgeschwindigkeit in der Bestrahlungspause abhängig. Zur Überprüfung des Einflusses der Pausendauer einer fraktioniert verabreichten Ganzkörperbestrahlung von 400 R führten folgende Überlegungen:

1. Die Höhe einer Gesamtdosis von 400 R ist in unserer Versuchsanordnung ausreichend, um Fraktionierungseffekte zu erzielen.
2. Das lymphoretikuläre Gewebe reagiert auf eine Bestrahlung mit unterteilten Dosen im Sinne einer Erholung (Fraktionierungsfaktor >1). Mit weiterer Unterteilung der Gesamtdosis wird der nachgewiesene Schaden größer und das Erholungsausmaß geringer.
3. Nach HOLTHUSEN, KEPP und REISNER ist die Erholungsgeschwindigkeit um so größer, je mehr reproduktive Tätigkeit das Gewebe aufweist; die Erholung vollzieht sich nicht gleichmäßig, sondern die Erholungsgeschwindigkeit nimmt mit der Zeit ab.

Um den Einfluß der Pausendauer deutlich zu machen, verabreichten wir bei einer Gesamtdosis von 400 R Einzeldosen von 100 R in verschiedenen Abständen (Tab. 3). Am Tage nach der letzten Bestrahlung wurde das Antigen gegeben.

In der ersten Gruppe erhielten die Tiere in täglichem Abstand 100 R. Die Anlaufszeit war von vier auf sechzehn Tage verlängert. Der erste serologisch nachweisbare Titer war mit 9,0 der höchste erreichte Wert.

Tab. 3

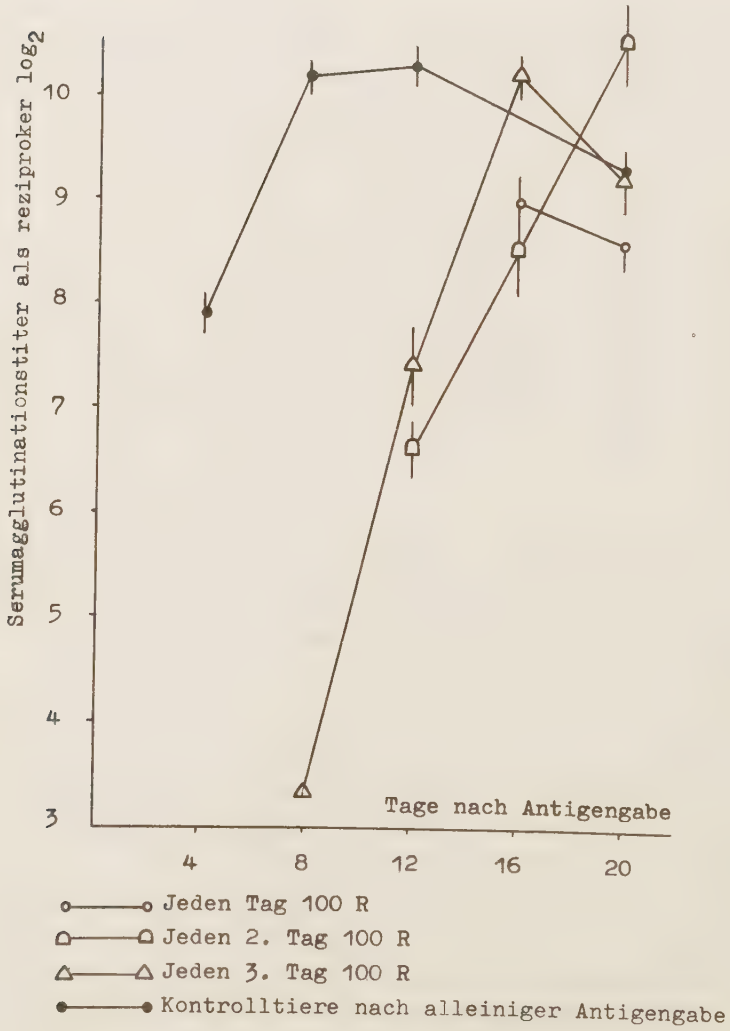
Verhalten der Serumagglutinine bei Einschaltung verschieden langer Pausen zwischen der fraktioniert durchgeführten Ganzkörperbestrahlung; Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung. Gesamtdosis 400 R, Einzeldosis 100 R.

Mittelwert der Endtiter mit mittlerem Fehler des Mittelwertes als $\log_2$

Versuchsgruppe	Serumtiter 4. Tag	8. Tag	12. Tag	16. Tag	20. Tag
Nur Antigengabe	7,9 ± 0,18	10,2 ± 0,15	10,3 ± 0,22		9,3 ± 0,18
Jeden Tag 100 R	Ø	Ø	Ø	9,0 ± 0,25	8,6 ± 0,31
Jeden 2. Tag 100 R	Ø	Ø	6,6 ± 0,3	8,5 ± 0,4	10,5 ± 0,4
Jeden 3. Tag 100 R	Ø	3,3 ± 0,0	7,4 ± 0,4	10,2 ± 0,2	9,2 ± 0,28

Abbildung 7

Verhalten der Serumagglutinine bei Einschaltung verschieden langer Pausen zwischen der fraktioniert durchgeführten Ganzkörperbestrahlung. Antigengabe 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung. Gesamtdosis 400 R, Einzeldosis 100 R



Eine zweite Gruppe bestrahlten wir jeden zweiten Tag mit 100 R. Hier waren Titer im Vergleich zur vorigen Gruppe schon am zwölften Tag - also vier Tage früher - nachzuweisen. Der Anstieg zum Maximaltiter verlief flach, der Spitzentiter wurde erst am zwanzigsten Tag erreicht; er lag mit 10,5 im Bereich der Kontrollgruppe.
In der dritten Gruppe verabreichten wir jeden dritten Tag 100 R. Nach den Ergebnissen war hier die geringste Schädigung des Antikörper bildenden Gewebes eingetreten. Eine Agglutininbildung war schon am achten Tage im Serum nachweisbar. Der Anstieg des Titers war bei diesem Bestrahlungsintervall von drei Tagen am steilsten. Der Spitzentiter lag im Bereich der Kontrollkurve (Abb. 7).

Beim Vergleich der einzelnen Gruppen wird deutlich, daß

1. bei der ersten Gruppe (tgl. 100 R) der Spitzentiter signifikant ($p < 0{,}01$) gegenüber dem Maximaltiter der Kontrollkurve erniedrigt ist,
2. die Spitzentiter der zweiten und dritten Gruppe (zwei- und dreitägiges Bestrahlungsintervall) beide im Bereich der Kontrollkurve liegen und sich nur unwesentlich unterscheiden und daß
3. mit Kürzung der Bestrahlungspause eine Verlängerung der Anlaufszeit einhergeht.

IV. B Der Einfluß des fraktioniert oder massiert applizierten Endoxans auf die Primär- und Sekundärreaktion (Booster-Effekt).

Wie schon bei IV. A ausgeführt wurde, hängt die Antikörperproduktion vom Ausmaß der Schädigung bzw. der schon erfolgten Erholung des lymphoretikulären Gewebes ab, wenn der Gewebsschaden vor der Antigengabe gesetzt wurde.

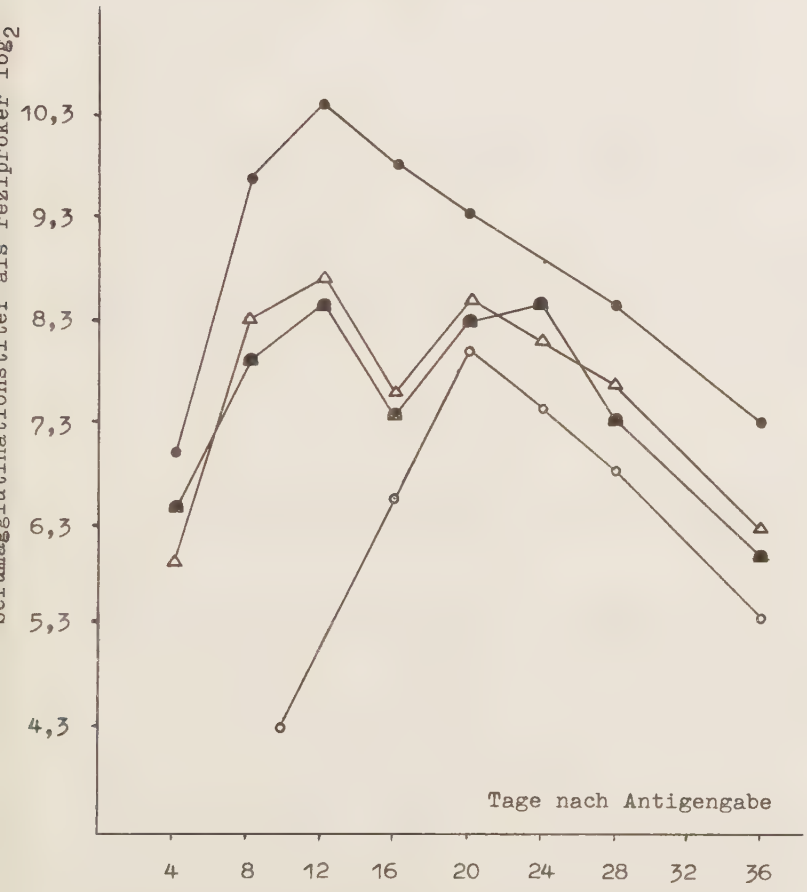
a. Die Wirkung des vor der Antigengabe fraktioniert oder massiert verabreichten Endoxans auf die Antikörperbildung.

In dieser Gruppe (a_1) erhielten die Ratten zwanzig Tage lang täglich 4 mg/kg ip. Am einundzwanzigsten Tage verabreichten wir das Antigen. Die Anlaufszeit war kurz, wir wiesen am vierten Tag Agglutinine im Serum nach. Die Kurve zeigt einen wellenförmigen Verlauf (Abb. 8). Gipfel wurden am zwölften und zwanzigsten Tag erreicht. Das gesamte Titerniveau lag deutlich und der Spitzentiter signifikant ($p < 0,01$) unter den Werten der Kontrollkurve (K_1).

Bei einer zweiten Gruppe (a_2) gaben wir den Tieren 40 mg/kg Endoxan im Abstand von zehn Tagen. Das Antigen erhielten die Ratten zehn Tage nach der letzten Endoxangabe; das ist der Zeitpunkt, an dem auch nach zwanzigtägig fraktionierter Behandlung das Brucellenantigen verabreicht wurde. Der Kurvenverlauf gleicht dem der vorigen Gruppe (20 x 4 mg/kg): gleich lange Induktionsperiode, zeitgemäß und bezüglich der Größe der End- und Spitzentite fast gleiche wellenförmige Konfiguration.

Abbildung 8

Verhalten der Serumagglutinine nach fraktionierter oder massierter Endoxan-Behandlung.



Kontrolltiere nach alleiniger Antigengabe (K_1)

4 mg/kg/tgl. Endoxan über 20 Tage, Antigengabe 24 Stunden später (a_1)

40 mg/kg Endoxan in 10tägigem Abstand, Anti - gengabe 10 Tage nach d. letzten Injekt.(a_2)

40 mg/kg Endoxan in 10tägigem Abstand, Anti - gengabe einen Tag nach der letzten Injektion (b)

b. Die Induktion einer Antikörpersynthese einen Tag nach einer massiert verabreichten Endoxandosis

Die Ratten erhielten zweimal im Abstand von zehn Tagen je 40 mg/kg Endoxan injiziert. Am Tage nach der letzten Endoxangabe wurde das Antigen gespritzt. Die Induktionsperiode war gegenüber den Gruppen a_1 und a_2 um fünf Tage auf zehn Tage verlängert, die Anstiegsrate verzögert. Der mittlere Spitzentiter traf zeitlich mit dem zweiten Gipfel beider Kurven der vorigen Gruppen zusammen (Abb. 8); er lag deutlich unter ihm und war zu dem entsprechenden Kontrollwert signifikant ($p < 0{,}001$) erniedrigt (Tab. 4).

c. Der Einfluß des fraktioniert oder massiert gegebenen Endoxans auf den Booster-Effekt

Wir sensibilisierten eine Kontrollgruppe (K_2) am ersten und vierundzwanzigsten Tag mit 0,1 mg/kg Brucellenantigen. Vor der zweiten Antigengabe betrug der Titer 8,3 und stieg nach der Zweitinjektion am achten Tag auf 13,3 an, danach sank er gleichmäßig ab.

In einer zweiten Gruppe (c_1) injizierten wir das Endoxan in einer Dosis von jeweils 40 mg/kg am vierten und vierzehnten Tag nach der ersten Antigengabe. Wie bei der Kontrollgruppe reinjizierten wir den Ratten am vierundzwanzigsten Tag das Antigen. Vor dieser Reinjektion erfaßten wir nur bei einigen Tieren wenige Agglutinine (4,3). Nach der Zweitinjektion ergab sich gegenüber der Steigung der Kontrollkurve eine deutlich verzögerte Anstiegsrate (Abb. 9). Der höchste Titer wurde mit 10,1 am zwölften Tag nach der zweiten Antigengabe

Tab. 4

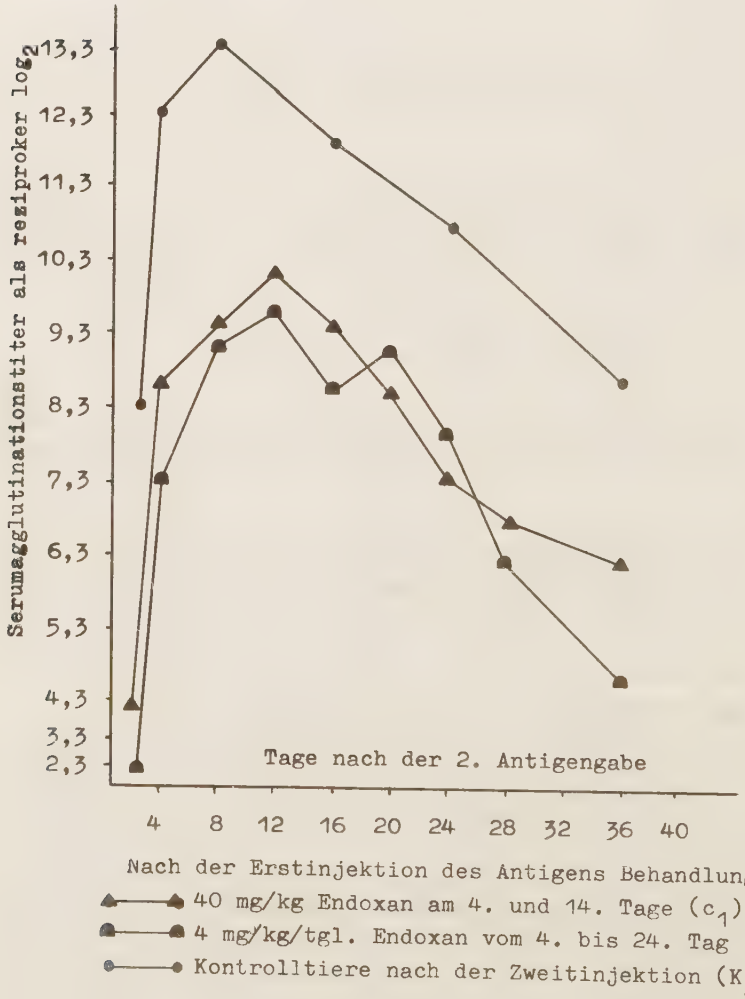
Der Einfluß des fraktioniert oder massiert applizierten Cyclophosphamids auf die Primär- und Sekundärreaktion (B o o s t e r - Reaktion)

Mittelwerte der reziproken Spitzentiter mit mittlerem Fehler (log_2) und Signifikanzberechnung

K_1	Kontrollgruppe	10,6 ± 0,18	P
a_1	20 x 4 mg/kg Endoxan, 1 Tag nach letzter Injektion Antigengabe	8,51 ± 0,15	$K_1 - a_1$ <0,001
a_2	2 x 40 mg/kg Endoxan, 10 Tage nach letzter Injektion Antigengabe	8,8 ± 0,21	$b - a_2$ >0,02 $K_1 - a_2$ <0,001
b	2 x 40 mg/kg Endoxan, 1 Tag nach letzter Injektion Antigengabe	8,12 ± 0,14	$a_1 - b$ >0,1 $K_1 - b$ <0,001
K_2	Reinjektion des Antigens nach 24 Tagen	13,32 ± 0,18	
c_1	Reinjektion nach 2 x 40 mg/kg Endoxan	10,1 ± 0,27	$K_2 - c_1$ <0,001
c_2	Reinjektion nach 20 x 4 mg/kg Endoxan	9,6 ± 0,21	$K_2 - c_2$ <0,001 $c_1 - c_2$ >0,1

Abbildung 9

Vergleich einer fraktionierten und massierten Endoxan - Behandlung in ihrer Wirkung auf den Booster-Effekt. Zweitinjektion des Antigens am 24. Tage nach der Erstgabe.



gemessen, die Erniedrigung gegenüber dem Spitzentiter der Kontrollkurve ist signifikant ($p < 0,01$).

In einer dritten Gruppe (c_2) unterscheidet sich die Versuchsanordnung der vorigen Tiergruppe dadurch, daß wir hier das Endoxan fraktioniert verabreichten. Wir injizierten vom vierten Tage nach der ersten Antigengabe zwanzig Tage lang täglich 4 mg/kg ip. Am Ende der Endoxanbehandlung waren keine Serumantikörper nachzuweisen. Nach der Resensibilisierung verlief der Anstieg zum Spitzentiter etwas flacher als in der vorigen Gruppe (s. Abb. 9). Der Spitzentiter lag signifikant unter dem Vergleichswert der Kontrollkurve ($p < 0,01$) und erreichte den Spitzenwert der massiv behandelten Tiere nicht.

Die Behandlung mit kleinen fraktionierten Dosen oder die Stoßtherapie mit großen Dosen in längeren von der Dosis abhängigen Zeitintervallen führen bei der erstmalig anlaufenden Antikörperbildung und auch vor der Resensibilisierung mit dem Antigen zu einer gegenüber den Werten der Kontrollgruppe sicher geringeren Antikörperbildung; der Unterschied zwischen fraktionierter Behandlung und Stoßtherapie ist bei beiden Applikationsarten nicht signifikant. Wird bei der Stoßtherapie das von der Dosis abhängige Intervall nicht eingehalten, so ist eine größere Schädigung der Antikörperbildung deutlich.

V. Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse bestätigen die von BENJAMIN und SLUKA, TALIAFERRO, DIXON, STENDER u.a. gemachte Beobachtung, daß es zu einer ausgeprägten Hemmung der Antikörperbildung kommt, wenn die Strahleneinwirkung zeitlich vor der Antigengabe liegt. Die Größe der Anlaufszeit, die Anstiegsrate und die Höhe des Maximaltiters hängen bei dieser Versuchsanordnung von dem Ausmaß der noch vorhandenen Schädigung bzw. der schon eingetretenen Erholung des lymphoretikulären Gewebes ab.

Eine Gesamtdosis von 300 R, die der Hälfte der $LD_{50/30}$ entspricht, führt als Einzeitbestrahlung oder nach fraktionierter Verabreichung zu einer Verlängerung der Induktionsperiode und zu einer signifikanten Erniedrigung der Spitzentiter. Die Spitzentiter wurden später erreicht (17. Tag) als bei den nur sensibilisierten Tieren (8. Tag).
Ein Vergleich der Einzeitbestrahlung mit der fraktionierten Behandlung zeigt, daß die stärkste Schädigung des lymphoretikulären Gewebes bei einer Gesamtdosis von 300 R durch einzeitige Einstrahlung der Gesamtdosis erzielt wurde. Der Spitzentiter war bei 1 x 300 R am stärksten deprimiert. Der Maximaltiter steht nach TALIAFERRO in enger Beziehung zur Gesamtmenge der gebildeten Antikörper. Zwischen der Wirkung der einzelnen Fraktionierungstypen 3 x 100 R, 6 x 50 R und 12 x 25 R ist kein wesentlicher Unterschied vorhanden.

Ein Vergleich der Antikörperbildung nach einer einmaligen Gesamtdosis von 300 R und der von uns gewählten Fraktionierung zeigt, daß das immunkörperbildende Gewebe auf die Dosisunterteilung mit einer

Erholung reagiert; der Fraktionierungsfaktor liegt über 1. Wie REISNER (1932) und KEPP (1947) an Versuchen mit dem Hauterythem zeigten, ist der Fraktionierungseffekt u.a. von der Höhe der Gesamtdosis abhängig. Die annähernd gleiche Wirkung der einzelnen Fraktionierungstypen läßt sich durch die Gesamtdosis von 300 R erklären, die zu niedrig gewählt war, so daß Erholungsvorgänge den besonderen Fraktionierungseffekt überlagern.

In einer weiteren Versuchsreihe wählten wir 400 R als Gesamtdosis und verglichen die Wirkung einer einmaligen Verabreichung mit der bei 8 x 50 R und 20 x 20 R erzielten Schädigung. Auch hier kam es bei allen bestrahlten Tiergruppen zu einer ausgeprägten Schädigung der Antikörpersynthese. Die stärkste Hemmung der Immunkörperbildung wurde durch die Einzeitbestrahlung erreicht: Anlaufszeit, Anstiegsrate und Spitzentiter waren gegenüber der sensibilisierten Kontrollgruppe und den beiden fraktioniert bestrahlten Tiergruppen am meisten beeinflußt. Das lymphoretikuläre Gewebe der beiden mit unterteilten Dosen bestrahlten Gruppen reagierte auch bei einer Gesamtdosis von 400 R im Sinne einer unvollständigen Kumulation des durch die Einzeitbestrahlung erzielten Effektes; der Fraktionierungsfaktor ist auch hier größer als 1.

Der Vergleich der beiden Fraktionierungstypen 8 x 50 R und 20 x 20 R zeigt, daß mit der stärkeren Fraktionierung 20 x 20 R eine größere Schädigung des lymphoretikulären Gewebes erzielt wurde: der Anstieg verläuft bei 20 x 20 R flacher. Der am sechzehnten Tag erreichte Spitzentiter ist mit 9,5 signifikant ($p < 0,01$) gegenüber 10,7 der mit 8 x 50 R behandelten Tiergruppe erniedrigt. Am zwanzigsten Tag war

der durch 20 x 20 R erreichte größere Schaden immer noch deutlich, obwohl der Unterschied durch zunehmende Erholungsvorgänge geringer geworden war.

Aus diesem Verhalten geht hervor, daß mit weiterer Unterteilung der Gesamtdosis der Fraktionierungsfaktor kleiner wird. Das lymphoretikuläre Gewebe als morphologisches Substrat der Antikörpersynthese wurde durch eine ausgedehntere Unterteilung der Gesamtdosis von 400 R stärker geschädigt. Dieses Ergebnis steht in grundsätzlicher Übereinstimmung mit der Beobachtung von WACHSMANN (1943), der an einem Fall von multiplen Hautmetastasen zeigen konnte, daß mit zunehmender Unterteilung der Gesamtdosis eine Änderung im Verhalten der Tumorzellen eintritt: bis zu 20 Einzeldosen verhielt sich der Tumor wie "normales Gewebe" (Fraktionierungsfaktor größer als 1), bei stärkerer Fraktionierung wie "vitales Gewebe" (Fraktionierungsfaktor kleiner als 1). Bei dem lymphoretikulären Gewebe ist ein ähnliches Verhalten denkbar, da es auf Grund seines schnellen Zellumbaus zu den Mausergeweben gezählt werden darf. Bei Mausergeweben ist von vielen Untersuchern eine Steigerung der Strahlenwirkung durch Fraktionierung beobachtet worden (SCHINZ und SLOTOPOLSKY 1926, FERROUX und REGAUD 1927, BAUER 1940, LEA 1941, OEHLERT 1957).

Die zum Vergleich mit den serologischen Veränderungen angefertigten histologischen Präparate von Milz und Leistenlymphknoten zeigen eine gute Relation mit den gewonnenen Titerwerden im Serum. Eine Ganzkörperbestrahlung von 400 R - eine Dosis, die über der $LD_{50/30}$ liegt - führt, 24 Stunden vor der Antigengabe verabreicht, zu einer beträchtlichen Zellschädigung in Milz und Lymphknoten. Die Organe sind

zellarm und nahezu frei von typischen Lymphozyten; im Vordergrund stehen die verschiedenen Formen der Retikulumzellen und relativ viel reife Plasmazellen. Sie wurden zu diesem Zeitpunkt (vor der Antigenstimulation) auch von MURRAY, PAPE und PIRINGER-KUCHINKA und TESSNER und HORAVA beobachtet. STENDER (1963) hält die kleinen mononukleären Zellen für lymphoide Retikulumzellen, die Dosen von 400 bis 800 R überleben. Da sie morphologisch von den kleinen Lymphozyten nicht zu unterscheiden sind, kann es sich bei diesen kleinen mononukleären Zellen auch um besondere Formen der Lymphozyten (Ruheformen) handeln, die besonders strahlenresistent sind. Die Proliferation der Plasmazellen und ihrer Vorstufen läuft erst am Tag nach der Antigengabe voll an. An diesem Tag wurden auch die ersten Agglutinine nachgewiesen. Die Lymphozyten erreichen am zwanzigsten Tag noch nicht ihre normale Häufigkeit. Die Repopulation beginnt im Lymphknoten eher als in der Milz und ist auch früher abgeschlossen.

Die histologischen Bilder der mit 8 x 50 R und 20 x 20 R bestrahlten Tiergruppen bestätigten die beim Vergleich der Antikörpertiter dieser Gruppen gefundenen Unterschiede. Während sich die Schnittbilder 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung und vier Tage nach der Antigengabe annähernd gleichen, kommt bei weiter unterteilter Fraktionierung (20 x 20 R) am zwölften und auch am zwanzigsten Tag in der Milz eine deutlich verlangsamte Erholung des lymphoretikulären Gewebes und eine verzögerte Plasmazellproliferation zum Ausdruck.

Die Verlängerung der Pausendauer zwischen den einzelnen Bestrahlungen bei einer Gesamtdosis von 400 R und Einzeldosen von 100 R läßt gegenüber der tägli-

chen Bestrahlung weitere Erholungsvorgänge zur Geltung kommen. Die zum Vergleich in täglichem Abstand eingestrahlte Gesamtdosis verursachte gegenüber der Kontrollkurve eine signifikante Depression des mittleren Spitzentiters ($p < 0,01$), während die Maximaltiter der zweiten und dritten Gruppe (zwei- und dreitägiges Intervall) beide im Bereich der Kontrollkurve lagen. Eine Pausendauer von 24 Stunden reicht bei einer Gesamtdosis von 400 R und einer Einzeldosis von 100 R nicht zur Erzielung einer maximalen Erholung durch regeneratorische Vorgänge aus; weitere Erholungsvorgänge des lymphoretikulären Gewebes finden bei einer Verlängerung der Pausendauer auf zwei Tage statt. Eine Pausenverlängerung auf drei Tage führt zu keiner weiteren Verringerung des Schadens, so daß angenommen werden darf, daß die Erholungsgeschwindigkeit zwischen zweitem und drittem Tag stark abnimmt und zwei Tage in unserer Versuchsanordnung zur Erzielung des größten Erholungsausmaßes ausreichen.

Das Cyclophosphamid "Endoxan" führt unabhängig davon, ob es vor oder nach der Antigengabe verabreicht wird, mit einer einmaligen Großdosis oder mehreren kleinen Konzentrationen zu einer Hemmung der Antikörperbildung (STENDER und Mitarb. 1959, 1961).
Wenn die cytostatische Behandlung der Antigengabe vorausgeht, so gibt die Reaktion auf das später verabreichte Antigen einmal das Ausmaß der Schädigung und zum anderen den Grad der Erholung des lymphoretikulären Gewebes wieder. Eine Gesamtdosis von 80 mg/kg, die entweder fraktioniert oder massiert verabreicht wurde, führt zu keiner Verlängerung der Induktionsperiode, wenn das Antigen am einundzwanzigsten Tage nach Behandlungsbeginn injiziert wird.

Bei Berücksichtigung des entsprechenden Zeitintervalls, das von der Einzeldosis des Endoxans abhängt, tritt nach beiden Behandlungsarten eine verhältnismäßig schnelle und gleich starke Erholung des lymphoretikulären Gewebes ein. Im Gegensatz zu den von DRUCKREY und Mitarb. an einigen Transplantationstumoren gefundenen Ergebnissen ist die Kumulationsgröße der Hemmung der Antikörperbildung bei massierter und fraktionierter Endoxangabe unter Berücksichtigung der entsprechenden Zeitintervalle gleich.

Die B o o s t e r - Reaktion, die nach einer Reinjektion des Antigens 24 Tage nach der ersten Gabe auftritt, ist erheblich abgeschwächt, wenn vom vierten Tage nach der Erstinjektion an eine cytostatische Behandlung in fraktionierter Form (20 x 4 mg/kg/tgl.) oder massiv mit 40 mg/kg am vierten und vierzehnten Tage durchgeführt wurde. Die Spitzentiter sind signifikant erniedrigt. Ein eindeutiger Größenunterschied tritt zwischen beiden Behandlungsarten aber nicht in Erscheinung.

VI. Zusammenfassung der Ergebnisse

A. Die Bestrahlungsversuche führten zu folgenden Ergebnissen:

1. 300 R als Einzeitbestrahlung oder mit veränderten Einzeldosen (3 x 100 R, 6 x 50 R, 12 x 25 R) im vierundzwanzigstündigen Intervall verabreicht, führen zu einer signifikanten Hemmung der nach der Bestrahlung induzierten Antikörperproduktion ($p < 0{,}001$). Bei den im einzelnen gewählten Fraktionierungstypen ist der Unterschied der mittleren Spitzentiter nicht deutlich. Die Dosis von 300 R ist zu niedrig gewählt, so daß Erholungsvorgänge den besonderen Fraktionierungseffekt überlagern.

2. Eine Gesamtdosis von 400 R führt gegenüber den sensibilisierten Kontrollen zu einer signifikanten Erniedrigung des mittleren Spitzentiters ($p < 0{,}001$), wenn die Dosis als Einzeitbestrahlung appliziert wird.
   Wird bei einer Gesamtdosis von 400 R die Einzeldosis stärker verzettelt (20 x 20 R), so zeigt sich gegenüber einer Bestrahlung mit größeren Einzeldosen (8 x 50 R) am sechzehnten Tag eine signifikante Erniedrigung des mittleren Spitzentiters ($p < 0{,}01$); diese stärkere Depression der Titer ist auch am zwanzigsten Tag noch deutlich.

3. 400 R Ganzkörperbestrahlung führt zu einer erheblichen Zellschädigung in Milz und Lymphknoten. Die Organe enthalten locker verteilt die verschiedenen Formen der Retikulumzellen und sind fast frei von Lymphozyten. 24 Stunden nach der Bestrahlung - vor der Antigengabe - sieht man relativ viel reife

Plasmazellen. Die durch die Antigengabe induzierte Aktivität des lymphoretikulären Gewebes erreicht mit der Bildung der "lymphoiden Entwicklungsformen" (WINTER, STRAUCH und STENDER 1957) und der Plasmazellen erst am zwölften Tag ihren Höhepunkt und ist damit gegenüber den nur sensibilisierten Tieren stark verzögert.

Der Vergleich der histologischen Bilder der mit 8 x 50 R und 20 x 20 R bestrahlten Tiergruppen zeigt bei der stärkeren Fraktionierung am zwölften und zwanzigsten Tag nach der Antigengabe eine deutlich verlangsamte Erholung des lymphoretikulären Gewebes und eine verzögerte Plasmazellproliferation.

4. Die Variation der Pausendauer (eintägiges, zweitägiges und dreitägiges Bestrahlungsintervall) bei gleicher Gesamtdosis (400 R) und Einzeldosen (100 R) macht bei der darauf folgenden Antikörperproduktion deutlich, daß der Spitzentiter der Gruppe, die täglich 100 R erhielt, gegenüber dem Kontrollmaximum und den mit zwei- und dreitägigem Abstand bestrahlten Tiergruppen signifikant ($p < 0{,}001$) erniedrigt ist. Der Maximaltiter der mit zwei- und dreitägigem Intervall behandelten Gruppen liegt im Bereich der Kontrollkurve und unterscheiden sich nur unwesentlich. Mit Kürzung der Bestrahlungspause wird eine Verlängerung der Anlaufszeit deutlich.

B. Die Versuche mit Cyclophosphamid hatten folgende Ergebnisse:

5. Bei vorausgegangener Behandlung mit 4 mg/kg Endoxan täglich zwanzig Tage lang und Antigengabe einen Tag nach der letzten Injektion oder einer Applikation von 40 mg/kg Endoxan am ersten und elften Tag und Antigengabe am einundzwanzigsten Tag liegen die Antikörpertiter deutlich tiefer als die Werte, die aus dem Serum nur sensibilisierter Kontrolltiere gewonnen wurden.

   Die Erniedrigung der Spitzentiter beider Tiergruppen gegenüber dem Maximum der Kontrollkurve ist signifikant ($p < 0{,}01$).
   Da sich die beiden Kurven im wesentlichen (Induktionsperiode, Anstiegsrate, Spitzentiter) sehr ähnlich sind, kann man schließen, daß bei Berücksichtigung des entsprechenden Zeitintervalls nach einer fraktionierten oder massiert durchgeführten Behandlung eine gleich schnelle und starke Erholung des antikörperbildenden Gewebes eintritt.

6. Eine andere Gruppe von Tieren wurde ebenfalls mit 2 x 40 mg/kg im Abstand von zehn Tagen behandelt, hier erhielten die Ratten das Antigen am Tage nach der letzten Injektion. Durch Verlängerung der Induktionsperiode um fünf Tage und eine im Vergleich zu den beiden vorigen Gruppen stärkere Depression des Maximaltiters wird demonstriert, daß in einem Gewebe, dem keine Zeit zur Erholung gegeben wurde, eine Antikörperproduktion nur verzögert und vermindert anlaufen kann.

7. Die durch Reinjektion des Antigens induzierte Booster-Reaktion ist deutlich abgeschwächt, wenn

vier Tage nach der Primärinjektion eine zytostatische Behandlung fraktioniert (20 x 4 mg/kg/tgl.) oder mit je 40 mg/kg am vierten und vierzehnten Tag durchgeführt wird. Gegenüber der Kontrollkurve sind die Spitzentiter ganz erheblich erniedrigt ($p < 0{,}001$). Ein deutlicher Unterschied der beiden Behandlungsarten ist aber nicht sichtbar.

VII. Zusammenfassung

Röntgenstrahlen und N,N-Bis-(2-chloraethyl)-N', O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Cyclophosphamid, Endoxan^{R}), ein Zytostatikum, behindern die Antikörperproduktion gegen Brucellenantigen bei der Ratte. Der Einfluß der Dosisunterteilung, der Fraktionierung, wird näher untersucht.

Eine Gesamtdosis von 300 R erzeugt bei einer Ganzkörperbestrahlung mit unterteilten Dosen (1 x 300 R, 3 x 100 R, 6 x 50 R, 12 x 25 R) und täglichem Intervall keinen besonderen Fraktionierungseffekt bei der Antikörperbildung, da dieser von ausgeprägten Erholungsvorgängen überlagert wird.

Bei einer unter gleichen Bedingungen verschieden fraktionierten Gesamtdosis von 400 R (8 x 50 R) reagiert das bestrahlte lymphoretikuläre Gewebe auf die Induktion einer Antikörperbildung gegenüber einer Einzeitbestrahlung im Sinne einer Erholung; der Fraktionierungsfaktor ist größer als 1. Mit weiterer Unterteilung der Gesamtdosis von 400 R (20 x 20 R) wird die Schädigung des lymphoretikulären Gewebes größer und das Erholungsausmaß signifikant geringer; diese größere Schädigung ist auch im histologischen Bild der Milz sichtbar.

Die Verlängerung der Pausendauer von einem Tag auf zwei Tage bei einer Gesamtdosis von 400 R und Einzeldosen von 100 R (Ganzkörperbestrahlung) läßt weitere Erholungsvorgänge des lymphoretikulären Gewebes zur Geltung kommen. Bei einer Ausdehnung des Intervalles auf drei Tage sind keine weiteren Erholungsvorgänge zu erfassen; die Erholungsgeschwindigkeit nimmt zwischen erstem und drittem Tag stark ab.

Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch Cyclophosphamid in zwei verschiedenen Dosierungsarten wird untersucht. Die Wirkung bei täglicher Verabreichung kleiner Dosen wird mit der massiven Stoßtherapie in großen, von der Dosis abhängigen Zeitintervallen verglichen.
Wenn die Sensibilisierung nach Abschluß der kleinfraktionierten (20 x 4 mg/kg) oder massiv dosierten cytostatischen Behandlung (2 x 40 mg/kg am ersten und zehnten Tag) erfolgt, ist die Bildung von Agglutininen bei beiden Behandlungsschemen im gleichen Ausmaß vermindert. Auch bei der starken Abschwächung der B o o s t e r - Reaktion durch das Cytostatikum besteht kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Verabreichungsarten.

Die Behandlung mit großen massiven Dosen Cyclophosphamid (40 mg/kg) in adaequaten Intervallen führt gegenüber der täglichen Verabreichung kleiner Dosen (4 mg/kg) zu keiner Verstärkung der toxischen Wirkung am Antikörper bildenden Gewebe.

VIII. Literaturverzeichnis

AMOROSO, C. u. W. LORENZ: Zur Frage "Erholungsgeschwindigkeit oder Resistenzsteigerung" der röntgenbestrahlten Haut des Wasserfrosches (Rana esculenta) bei geringer Fraktionierung Strahlenther. 108 (1959): 84 - 94

BENJAMIN, E. u. E. SLUKA: Antikörperbildung nach experimenteller Schädigung des hämapoetischen Systems durch Röntgenstrahlen Wien. Klin. Wochenschr. 21 (1908): 311 - 313

BAUER, R.: Untersuchungen über die Einwirkung unterschiedlich verabfolgter Röntgenbestrahlung auf das Knochenmark und seine Zellelemente, zugleich ein Beitrag zum Zeitfaktorproblem Strahlenther. 67 (1940): 424 - 501

BERGONIÉ, J. u. L. TRIBONDEAU: Untersuchungen über die Erfolge der Radiotherapie Nach Münch. med. Wschr. (1907): 301

BURNET, F. M. "The theories of antibody production" in NAJJAR, V.A.: "Immunity and virus infection", J. Wiley and Nature 1958, 1383

Immunologically competent cells in the fowl Ciba Found. Symp. "The Immunologically Competent Cell", London, Churchill (1963): 77 - 82

CHAOUL, H. u. F. WACHSMANN: Die Nahbestrahlung II. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1953

COONS, A.H., E.H. LEDUC and J.M. CONOLLY: Studies on antibody production pg 49 - 59, 61 - 71, 73 - 103
J. exper. Med. 102 (1955)

COUTARD, H.: Zusammenfassung der Grundlagen der röntgentherapeutischen Technik der tiefliegenden Krebse
Strahlenther. 37 (1930): 50 - 58

Über Röntgentherapie der Pharynxkarzinome
Strahlenther. 52 (1935): 1 - 10

DIXON, F. J., D.W. TALMAGE, P.H. MAURER: Radiosensitive and radioresistante phases in the antibody response
J. Immunol. 68 (1952): 693 - 700

DONALDSON, D.M., S. MARCUS, K.K. GYI, E.H. PERKINS: The influence of immunization and total body X-irradiation on intracellular digestion by peritoneal phagocytes
J. Immunol. 76 (1956): 192 - 199

DRUCKREY, H., D. STEINHOFF, M. NAKAYAMA, R. PREUSSMANN, K. ANGER: Experimentelle Beiträge zum Dosis-Problem in der Krebs-Chemotherapie und zur Wirkungsweise von Endoxan
Dtsch. med. Wschr. 88 (1963): 651 - 663, 715 - 721

EHRICH, W. E.: Die cellulären Bildungsstätten der Antikörper
Klin.Wschr. 33 (1955): 315 - 322

EHRICH, W.E., F.N. HARRIS: The formation of antibodies in the popliteal lymph node in rabbit
J. exp. Med. 76 (1942): 335 - 347

EICHHORN, H.-J.: Untersuchungen über die Relative Biologische Wirksamkeit verschiedener Strahlenqualitäten an Säugetieren in vivo
Strahlenther. 110 (1959): 325 - 340

ELKIND, M.M. and H. SUTTON: Radiation Res. 13 (1960): 556 (Zit. n. J.F. FOWLER u. Mitarb.)
Brit. J. Radiol. 36 (1963): 188

ELLIS, F.: Fractionation and dose-rate I. The dosetime relationship in radiotherapy
Brit. J. of Radiol. 36 (1963): 153

ENGELHARDT, G.: Zur Lokalisation der Antikörperbildung
Dtsch. med. Wschr. (1958): 846 - 850, 877 - 884

ERSLEV, A.: Antibody in lymphocytes

J. Immunol. 67 (1951): 281 - 288

FAGRAEUS, A.: The plasma cellular reaction and its relation to the formation of antibodies in vitro
J. Immunol. 58 (1948): 1 - 13

FERROUX, R. u. Cl. REGAUD: Est-il possible de stériliser le testicule du lapin adulte par une dose massive de rayons X, sans produire de lésion grave de la peau?
C.R. Soc. Biol. 97 (1927): 330 - 333

Discordance des effects des rayons X, d'une part dans la peau, d'autre part dans le testicule, par le fractionnement de la dose: diminution de l'efficacité dans la peau, maintien de l'efficacité das le testicule
C.R. Soc. Biol. 97 (1927): 431 - 434

FINZI, N.S. u. D.H. HARMER: Radium treatment of intrensic of the larynx. Brit. med. J. (1928) II: 886

FITSCH, F.W., R.W. WISSLER, La VIA, P. BARKER: The timming of antigen injection relative to whole body X-irradiation and the development of circulating antibody and the splenic histologic reaction in the rat J. Immunol. 76 (1956): 151 - 160

FOWLER, J.F. and B.E. STERN: Dose-time relationships in radiotherapy and the validity of cell survival curve models Brit.J.Radiol. 36 (1963): 163

FOWLER, J.F., R.L. MORGAN, J.A. SILVESTER, D.K. BEWLEY and B.A. TURNER: Experiments with fractionated X-ray treatment of the skin of pigs Brit. J. Radiol. 36 (1963): 188

FREUND, L.: Zur Geschichte der "Schwachbestrahlung" Strahlenther. 25 (1927): 593 - 596

GLOCKER, R., H. LANGENDORFF und A. REUSS: Gesetzmäßigkeiten der Zeitfaktorwirkung bei Röntgenbestrahlung Strahlenther. 42 (1931): 148 - 156

GOWANS, J.L., D.D. Mc GREGOR and DIANA M.COWEN The rôle of small lymphocytes in the rejection of homografts of skin Ciba Found. Symp. "The Immunologically Competent Cell", London, Churchill (1963): 20 - 29

GRAHAM, J.B., R.M. GRAHAM, L. NERI, K.A. WRIGHT: Enchanced production of antibodies by local irradiation. I. Measurement of circulating antibodies J. Immunol. 76 (1956): 103 - 109

HEKTOEN, L.: The influence of the X-ray on the production of antibodies J. Infect. Dis. 17 (1915): 415 - 422

Further studies on the effects of roentgen rays on antibody production J. Infect. Dis. 22 (1918): 28 - 33

HEKTOEN, L. u. H.J. CORPER: J. Infect. Dis. 28 (1921): 279

Zit. n. H. St. STENDER u. Mitarb., Strahlenther. 115 (1961): 175 - 186

HOLTHUSEN, H.: Der Zeitfaktor bei der Röntgenbestrahlung Strahlenther. 21 (1926): 275 - 305

Biologische Wirkung der Röntgenstrahlen mit besonderer Berücksichtigung des Einflusses der Wellenlänge, der Intensität und der Bestrahlungszeit Strahlenther. 31 (1929): 509 - 517

Zur Geschichte der Langzeitbestrahlung Strahlenther. 41 (1935): 435 - 449

HOLTHUSEN, H. und R. BRAUN: Grundlagen und Praxis der Röntgenstrahlendosierung Leipzig: Georg Thieme 1933

HAENISCH-HOLTHUSEN-LIECHTI: Einführung in die Röntgenologie 5. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1951

HUEBSCHMANN, P.: Verh. dtsch. Ges. 16 (1913): 110 Zit. nach Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Springer-Verlag 1956, Abschn.: Die Entzündung. Verfasser Ehrich, W.E.

JERNE, N.K.: Proc. Nat. Acad. Sci., U.S. 41 (1955): 849
Zit. nach SCHULTZE, H.E. "Immunitätslehre" in Klinik der Gegenwart, 9. Band 407 - 476, Urban & Schwarzenberg, München-Berlin 1959

JOHNSON and MERRIL: Treatment of carcinoma by X-rays
Fortschr. Röntgenstr. 5 (1901): 146

JÜNGLING, O.: Gibt es in der Röntgentherapie eine einheitliche Karzinomdosis?
Münch. med. Wschr. 67 (1920): 690 - 692

KEPP, R.K.: Ergebnisse von Erythemversuchen mit fraktionierter Röntgenbestrahlung verschiedener Intensität
Strahlenther. 72 (1943): 195 - 201

Ergebnisse von Erythemversuchen mit fraktionierter Röntgenbestrahlung bei ungleicher Größe der Einzeldosis
Strahlenther. 74 (1944): 331 - 339

Die Beeinflussung der Hautreaktion durch längere Bestrahlungspausen bei fraktionierter Röntgenbestrahlung
Strahlenther. 76 (1947): 573 - 583

Der Erholungsablauf in der Haut nach Röntgenbestrahlung
Strahlenther. 78 (1949): 273 - 276

Die Bedeutung der Pausendauer bei der perkutanen fraktionierten Röntgenbestrahlung
Wien. klin. Wschr. 1949: 336

	Grundlagen der Strahlentherapie Stuttgart: Georg Thieme 1952
	Zusammenhänge zwischen Ionisationsdichte und Zeitfaktorwirkung Strahlenther. (1953): 590 - 598
KEPP, R.K. und L. SEYFARTH:	Die Beeinflussung der Hautreaktion durch längere Bestrahlungspausen bei fraktionierter Röntgenbestrahlung Strahlenther. 76 (1947): 573 - 583
KINGERY, B.:	Saturation in roentgen therapy: its estimation and maintenance Arch. of Derm. 1 (1920): 423 - 433
KOHN, H.I.:	Effect of X-rays upon hemolysin production in the rat J. Immunol. 66 (1951): 525 - 533
KRÖNIG, B. und W. FRIEDRICH:	Physikalische und biologische Grundlagen der Strahlentherapie Sonder-Bd III zur "Strahlentherapie", München: Urban & Schwarzenberg 1918
LAJTHA, L.G., R. OLIVER and F. ELLIS:	Zit. nach J.F. FOWLER and B.E. STERN: Brit. J. Radiol. 36 (1963): 163
LANGENDORFF, H.:	Biologische Grundlagen der Strahlentherapie In MEYER-MATTES, Stuttgart: Georg Thieme 1949
LEA, D.E.:	The dependence of the biological effect of radiation on intensity and wave length Amer. J. Roentgenol. 45 (1941): 605 - 613
LEDERBERG, J.:	Science 129 (1959): 1649

LENNERT, K.: Lymphknoten, Bandteil A, Cytologie und Lymphadenitis
Handb. spez. path. Anatomie I/3A
J. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1961

LIECHTI, A.: Über den Zeitfaktor der biologischen Strahlenwirkung
Strahlenther. 33 (1929): 1 - 54

MAC COMB, W.S. und E.H. QUIMBY: The rate of recovery of human skin from the effects of hard or soft roentgen rays or gamma rays
Radiology 27 (1936): 196 - 204

MAC MASTER, P.D.: Synposium No. 5 of the N.Y. Acad. of Medicine: "The Nature and Significance of the Antibody Response", New York 1953

MAC MASTER, P.D. und S.S. HUDACK: J. exper. Med. 61 (1935): 735
J. exper. Med. 61 (1935): 783

MEDAWAR, P.B.: Introduction: Definition of the immunologically competent cell
Ciba Found. Symp. "The Immunologically Competent Cell", London, Churchill (1963): 1 - 3

METSCHNIKOFF, E.: Biol. Zentralblatt 3 (1883): 560

MIESCHER, G.: Carcinomtherapie mit superponierten (verzettelten) Röntgenbestrahlungen
Strahlenther. 36 (1930): 434 - 471

Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Fraktionierung auf den Späteffekt
Acta radiol. (Stockh.) 16 (1935): 25

Miller, J.F.A.P. and D. OSOBA The rôle of the thymus in the origin of immunological competence

Ciba Found. Symp. "The Immunologically Competent Cell", London, Churchill (1963): 62 - 70

MURRAY, R.G.: The Spleen. In W. Bloom: Histopathology of irradiation from external and internal sources. Mc Graw-Hill, New York, Toronto, London 1948

NITZGE, K. und H. IVEN: Über die Protrahierung der Röntgendosis
Strahlenther. 62 (1938): 91 - 108

OEHLERT, G.: Untersuchungen an den Eiern von Ascaris megalocephala als Grundlage für die fraktionierte Therapie mit Elektronen
Habilitationsschrift, Gießen 1957

PAPE, R., N. JELLINEK: Die Milz als Indikator verschiedener Strahlenwirkungen
Radiol. Austria 3 (1950): 44

PAPE, R., A. PIRINGER-KUCHINKA: Über die Wiederherstellung des lymphoretikulären Gewebes nach Strahlenschaden
Strahlenther. 101 (1956): 523 - 535

PATERSON, R.: The radical X-ray treatment of the carcinomata
Brit. J. Radiol. 9 (1936): 671 - 679

PHAHLER, G.E.: Carcinoma and tuberculosis treated by the roentgen rays.
Ref. in Fortschr. Röntgenstr. 6 (1904): 228

REBUCK, J.W.: The structure of the giant cells in the bloodforming organs.
J. Lab. clin. Med. 32 (1947): 660 - 699

REGAUD, CL.: Le rythme alternant de la multiplication cellulaire et la radiosensibilité du testicule Compt. rend. soc. de biol. 86 (1922): 822 - 824

REGAUD, CL. und R. FERROUX: Über den Einfluß des "Zeitfaktors" auf die Sterilisation des normalen und des neoplastischen Gewebes durch die Radiotherapie Strahlenther. 31 (1929): 495 - 508

REICHHOLD, A.: Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Mitosen im Karzinomgewebe und auf die Blutgefäße Münch. med. Wschr. 28 (1921): 881

REISS, E., E. MERTENS und W.E. EHRICH: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 74 (1950): 732 (Zit. nach RIECKE, G. Inaug.-Diss.-Marburg 1959)

REISNER, A.: Untersuchungen über die Veränderungen der Hauttoleranz bei verschiedener Unterteilung der Strahlendosis Strahlenther. 37 (1930): 779 - 787

Der Hauterythemverlauf bei fraktionierter Verabfolgung großer Strahlenmengen Fortschr. Röntgenstr. 45 (1932): 293 - 307

Hauterythem und Röntgenstrahlung Ergebn. d. med. Strahlenforschung 6 (1933): 1 - 60

RENNEKAMP, E.-L.: Über die Erythemversuche zur Klärung des Einflusses von mehrtägigen Pausen bei fraktionierter Röntgenbestrahlung Inaug.-Diss., Göttingen 1944

RIECKE, G.: Untersuchungen über die Erholung des strahlengeschädigten lymphoretikulären Gewebes. Inaug.-Diss. Marburg 1959

ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark. 3. Aufl. G. Thieme, Stuttgart 1960

MILLER, J.F.A.P.: "Thymus und Immunsystem" in Image Roche, 2/1967, Grenzach/ Baden, Deutsche Hoffmann-La-Roche AG (Wiedergabe aus Ciba Found. Symp. "The Thymus": Experimental and clinical studies, London, Churchill 1966)

SAMBROOK, D.K.: Clinical aspects of fractionation and dose-time relationships Brit. J. Radiol. 36 (1963): 174

SCHERER, E., H. St. STENDER: Strahlenpathologie der Zelle Georg Thieme, Stuttgart 1963: 149 - 180

SCHINZ, H.: Gegenwärtige Methoden der Krebsbestrahlung und ihre Erfolge. Verteilte Dosis Strahlenther. 37 (1930): 31 - 49

Die fraktionierte und protrahiert-fraktionierte Bestrahlung Strahlenther. 58 (1937): 373 - 405

SCHINZ, H. und B. SLOTOPOLSKY: Experimenteller Beitrag zur Frage der Röntgenallergie Acta radiol., Stockholm 7 (1926): 365 - 388

SCHRIDDE, H.: Achoff's Lehrbuch der Path. Anat. Jena 1911

SCHWARZ, G.: Zur Kenntnis der Röntgenreaktion der Haut, Reversion der Röntgenallergie Strahlenther. (1924): 483 - 485

Die fortgesetzte Kleindosis und deren biologische Begründung Strahlenther. 19 (1925): 325 - 332

Über die theoretischen und praktischen Grundlagen einer Lang-Schwach-Bestrahlungsmethode Strahlenther. 37 (1930): 709 - 718

SCHULTZE, H.E.: "Immunitätslehre" in "Klinik der Gegenwart" 9. Band: 407 - 476, Urban & Schwarzenberg, München-Berlin 1959

SIMIC, M.M., M.U. PETKOVIC, D.D. MANCIC: Partial restoration of hemolysinforming capacity in X-irradiated rats by homologous spleen desoxyribonucleic acid. Bull. Inst. Nuclear Sci. "Boris Kidrich" 9 (1959): 155 - 164

STENDER, H. St.: Die Wirkung ionisierender Strahlen auf die Antikörperbildung in Abhängigkeit von strahlenbiologischen Faktoren Strahlenther. 107 (1958): 12 - 41

STENDER, H. St., D. STRAUCH, H. WINTER: Die Antikörperbildung im Lymphknoten und ihre Beeinflussung durch vorausgegangene Bestrahlung Z. Ges. exper. Med. 130 (1958): 113

Untersuchungen über die radiosensible Phase bei der Antikörperbildung Z. f. Naturforschung 13b (1958): 17 - 19

Vergleichende Untersuchungen über die Behinderung der Antikörperbildung durch Röntgenstrahlen und durch einen N-Lostphosphamidester Strahlenther. 115 (1961): 175 - 186

STENDER, H. St., D. RINGLEB, D. STRAUCH und H. WINTER: Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch Zytostatika und Röntgenstrahlen Strahlenther. 43 (1959): 392 - 399

STENDER, H. St.: Die Wirkung ionisierender Strahlen auf Immunprozesse Marburger Sitzungsberichte Bd 83 (1963): 19 - 38

STENDER, H.St., D. STRAUCH H. WINTER und W. TEXTOR: Die Wirkung des Cyclophosphamids bei fraktionierter oder massierter Dosierung auf die Antikörperbildung
Arzneim. Forsch. 13 (1963): 1031 - 1034

STENSTROM, W. und W. MATTICK: Untersuchung der Hautreaktion bei Unterteilung der Dose
Fortschr. Röntgenstr. 35 (1926/27): 1138

STRANDQVIST, M.: Studien über die kumulative Wirkung der Röntgenstrahlen bei Fraktionierung
Acta radiol. (Stockh.) Suppl. 55 (1944)

TALIAFERRO, W.H., L.G. TALIAFERRO: Effect of X-ray on immunity: a review
J. Immunol. 66 (1951): 181 - 212

TALIAFERRO, W.H., L.G. TALIAFERRO, E.F. JANSSEN: The localization of X-ray injury to the initial phases of antibody response
J. infect. Dis. 91 (1952): 105 - 124

Effect of X-rays on hemolysin formation following various immunization and irradiation procedures
J. infect. Dis. 95 (1954): 117 - 133

Further studies on the radiosensitive stages in hemolysin formation
J. infect. Dis. 95 (1954): 134 - 141

TALMAGE, D.W.: Effect of ionizing radiation on resistance and infection
Ann. Rev. Microbiol. 9 (1955): 335 - 346

TESSNER, C.F., A. HORAVA: Spleencytology studies in swine to nuclear radiation
Lab. Invest. 10 (1961): 411

THORBECKE, G.J. und F.J. KEUNING: Antibody formation in vitro by haemopoetic organs after subcutaneous and intravenous immunization
J. Immunol. 70 (1953): 129 - 134

WACHSMANN, F.: Grundsätzliches zur Frage der Fraktionierung bei der Röntgenbehandlung bösartiger Geschwülste, I. Mitteilung
Strahlenther. 73 (1943): 636 - 648

Experimentelle Untersuchungen an einem Fall von mutiplem Hautkarzinom unter besonderer Berücksichtigung der Frage der Zweckmäßigkeit der Fraktionierung, II. Mitteilung
Strahlenther. 73 (1943): 649 - 662

Auswirkung der Dosisabhängigkeit des Zeitfaktors auf die fraktionierte Röntgenbestrahlung, III. Mitteilung
Strahlenther. 73 (1943): 663 - 670

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Verträglichkeit von hohen Röntgenstrahlendosen bei verschiedenen Bestrahlungsmethoden
Strahlenther. 76 (1947): 260 - 270

WACHSMANN, F. und G. BARTH: Die Nahbestrahlung nach Chaoul
Beiheft zu dem Demonstrationsfilm Berlin und München: Urban & Schwarzenber 1949

WHITE, B.G.: Functional recognition of immunologically competent cells by means of the fluorescent antibody technique
Ciba Found. Symp. "The Immunologically Competent Cell" London, Churchill (1963): 6 - 16

WINTER, R., D. STRAUCH, H. St. STENDER: Serologische und zytologische Untersuchungen über die Beeinflussung der Antikörperbildung durch Röntgenstrahlen
Z. Immun. Forsch. 114 (1957): 266 - 281

WINTZ, H.: Untersuchungen über den Zeitfaktor
Strahlenther. 42 (1931): 591 - 598

Vergleich der Dosen bei der protrahiert-fraktionierten und bei der einzeitigen Röntgenbestrahlung
Strahlenther. 48 (1933): 535 - 551

In Veit-Stöckel, Handbuch der Gynäkologie, Bd IV,2, München: J.F. Bergmann 1935: 57 - 77

WINTZ, H. und W. RUMP: Biologische Wirkung verschiedener Röntgenstrahlenqualitäten
Strahlenther. 22 (1926): 451 - 459

WISSLER, R.W., M.J. ROBSON, F. FITCH, W. NELSON and L.O. JACOBSON: The effects of spleen shielding and subsequent splenectomy upon antibody formation in rate receiving total-body-X-irradiation
J. Immunol. 70 (1953): 379 - 385

YOFFEY, J.M.: The kinetics of cellular proliferation
F. Stohlman, ed., Grune and Stratton, New York 1959 pp 48 - 49

An dieser Stelle erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. H. St. S t e n d e r für die Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung bei der Bearbeitung der Fragestellung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf

Am 15. Oktober 1938 wurde ich, Wolfgang Textor, als Sohn des Lehrers Georg Textor und seiner Ehefrau Auguste Textor, geb. Brand in Kassel geboren. Die ersten zehn Lebensjahre wohnte ich in Eberschütz, Kreis Hofgeismar, wo ich vier Jahre in die Grundschule ging. Im Oktober 1948 zogen wir nach Kassel; ich besuchte hier von Ostern 1949 bis Februar 1958 die Albert-Schweitzer-Schule. Am 28. Februar 1958 legte ich dort die Reifeprüfung ab.

Im Sommer 1958 begann ich an der Universität Marburg/Lahn das Medizinstudium. Dort bestand ich nach dem zweiten Semester das Vorphysikum und nach dem fünften Semester das Physikum. Im sechsten und siebten Semester war ich an der Universität Wien eingeschrieben. Vom achten Semester bis zum Schluß des Studiums studierte ich wieder in Marburg, wo ich am 3. März 1964 das Staatsexamen bestand.

Während meiner Medizinalassistentenzeit arbeitete ich am Strahlen-Institut Marburg, im Kreiskrankenhaus Rotenburg an der Fulda und in der Universitäts-Frauenklinik in Gießen. Zur Zeit bin ich am Marienkrankenhaus in Kassel als Assistenzarzt tätig.

Meine akademischen Lehrer waren:

an der Philipps-Universität Marburg die Herren Professoren und Dozenten BOCK, BRAUN-FALCO, BÜCHER, DIMROTH, EGGSTEIN, EXNER, FÖRSTER, GEDIGK, HAMM, HARTMANN, HENSEL, HILDEBRAND, HORNUNG, JACOB, KOTT-MEYER, LANG, LINNEWEH, LÖHR, LÜBBERS, MAHR, V. MANGER-KÖNIG, MARX, MATTES, MAURATH, DU MESNIL DE ROCHEMONT, MEYER, NIESSING, NIETH, OKSCHE, PETRY, PIRSON, PRINZ, RODECK, SCHMID, SCHMITZ, SCHÖLMERICH, SCHRAPPE, SCHWAIGER, SEIDEL, SIEGERT, SIESS, STENDER, STREICHER, VOGT, WALCHER, WENDT;

an der Universität Wien die Herren Professoren und Dozenten BREITENBERG, CHIARI, GITSCH, KUNZ, NOVOTNY, PILLAT, TULZER, ULLIK.